



# HEVOSEN KESÄIHOTTUMA KIRJALLISUUSKATSAUS

Eläinlääketieteen lisensiaatin tutkielma

Helsingin yliopiston eläinlääketieteellinen tiedekunta

Eläinlääketieteellisten biotieteiden osasto

ELK Oona Uunila

Helsinki 2017



Tiedekunta - Fakultet - Faculty Eläinlääketieteellinen tiedekunta		Osasto - Avdelning – Department Eläinlääketieteellisten biotieteiden osasto	
Tekijä - Författare - Author Oona Uunila, ELK			
Työn nimi - Arbetets titel - Title Hevosien kesäihottuma - kirjallisuuskatsaus			
Oppiaine - Läroämne - Subject Immunologia			
Työn laji - Arbetets art - Level Lisensiaatin tutkielma		Aika - Datum - Month and year 9/2017	Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages 47
<p>Tiivistelmä - Referat – Abstract</p> <p>Hevosien kesäihottuma (engl. insect bite hypersensitivity, IBH) on tyyppin I yliherkkyyssreaktio <i>Culicoides spp.</i> -lajin hyönteisille. Yliherkkyyssreaktiota tavataan kaikilla mantereilla kaikilla alueilla, joissa hyönteislajia esiintyy, lukuun ottamatta pieniä maantieteellisesti eristettyjä alueita. Suomessa lajista esiintyy <i>Culicoides nubeculosus</i>:ta ja <i>C. obsoletus</i>:ta. Yliherkkyyden esiintyvyyden vaihtelee 3 %:sta 60 %:iin ja se koetaan omistajien keskuudessa haastavaksi ja vaikeaksi taudiksi.</p> <p>Hevosien kesäihottumassa hevosien immuunivasteen T-auttajasolupopulaatio (Th) kääntyy normaalin terveen hevosien Th1-soluvasteesta Th2-soluvasteen puolelle aiheuttaen allergeenille spesifisen vasta-aineen immunoglobuliini E:n (IgE) ylituotannon immunoglobuliini G:n ja A:n sijasta. Immunologisen vasteen muutokseen vaikuttaa major histocompatibility II (MHCII)-allergeenisittelijämolekyylin geenin monimuotoisuus sekä vallitseva sytokiini-profiili. Akuuteissa ja kroonisissa taudeissa on havaittu Th-soluvasteen ja sytokiinin eroavaisuuksia ja siten hankaloittaa taudin kulun ja hoitovaihtoehtojen tutkimista. Kesäihottuman diagnosointi perustuu esitietoihin, kliiniseen tutkimukseen ja taudin kausiluontoisuuteen. Allergeenipaneelleja on kehitetty luomaan uusi diagnosointimenetelmä.</p> <p>Myös ihmisillä ja koirilla on tyyppin I yliherkkyyttä, atooppista dermatiittia eli atopiaa. Ihmisen ja koiran yliherkkyyksistä on runsaammin tutkimuksia kuin hevosten ja taudeissa on huomattavia yhtäläisyyksiä, joita voidaan käyttää apuna kesäihottuman tutkimuksessa. Koiran ja ihmisten atopia noudattavat sytokiini-profiililtaan hevosen kesäihottumaa kroonisissa ja akuuteissa taudinkuvissa.</p> <p>Kutinan syntymekanismia on tutkittu hiiri- ja koiramallein ja kutinasytokiineja ovat mm. histamiini ja interleukiini 31 (IL-31). Histamiinia vapautuu syöttösolujen pinnalle kiinnittyneen allergeenispesifisen IgE:n kohdatessa allergeenin. IL-31 on Th2-solujen tuottama soluvälittäjäaine, joka aiheuttaa kutinaa. Hevosilla IL-31 -välitteistä kutinaa ei ole raportoitu. Myös serotoniini, asetyylkoliini, substanssi P, eri leukotrieenit ja bradykiniinit, proteaasit ja lysofostidiinihappo aiheuttavat kutinaa eri signaali-reittien kautta. Yhtenä yhdistävänä, epäspesifisenä signaali-reittinä pidetään Transient Receptor Potential Vallinoid 1:stä (TRPV1), joka aktivoituu toissijaisesti hermosolun depolarisoituessa muiden kutinaa aiheuttavien sytokiinin läsnäollessa. Vastaavia tutkimuksia hevosilla ei ole tehty.</p> <p>Kesäihottuman lääkkeelliset hoitovaihtoehdot ovat kutinan hillitseminen kortisonilla, mutta ei sovellu pirkäaikaikäkäyttöön. Teoriassa on mahdollista käyttää koiran atopiassa käytettävää oklasitinibiä kutinan hillitsemiseksi myös kesäihottumassa, mikäli hevosen kutinamekanismi on yhteneväinen koiran kutinan signaali-reittien kanssa. Siklosporiinia käytetään koirien ja ihmisten atopiaan, mutta se toimii parhaiten Th1-soluvasteen torjumiseen. Antihistamiinien teho hevosella on huono. Nykyinen markkinoilla oleva siedätyshoito koetaan kalliiksi ja hoitovasteeltaan huonoksi. Uudet tutkimukset apuaineen kanssa injektoidusta allergeenistä ovat lupaavia, mutta vaativat lisätutkimuksia. Muut hoitovaihtoehdot ovat tieteellisiltä perusteiltaan heikkoja, näyttö puuttuu täysin tai tutkimukset ovat olleet heikkolaatuisia.</p> <p>Hevosien kesäihottuman diagnostiikka on toistaiseksi haastavaa ja hoitovaihtoehdot heikohkot tieteelliseltä näytöltään.</p>			
Avainsanat - Nyckelord - Keywords hevonen, kesäihottuma, equine insect bite hypersensitivity, IgE, hypersensitivity type I, TRPV1, oklasitinibi			
Säilytyspaikka - Förvaringställe - Where deposited			
HELDA – Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto			
Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) - Instruktör och ledare - Director and Supervisor(s)  Professori Olli Vapalahti FT Sami Junnikkala (ohjaaja)			

## SISÄLLYS

<b>1</b>	<b>JOHDANTO.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>KIRJALLISUUSKATSAUS.....</b>	<b>2</b>
2.1	HEVOSEN KESÄIHOTTUMA.....	2
2.1.1	Signalementti eli ulkoiset ominaisuudet.....	2
2.1.2	Kliiniset oireet.....	3
2.1.3	Sijainti ja ympäristö.....	4
2.1.4	Erotusdiagnoosit.....	4
2.1.5	Patogeneesi.....	5
2.1.6	Major histocompatibility II - allergeeni-peptidin esittelijäproteiinin rooli.....	6
2.1.7	Immunoglobuliini E.....	7
2.1.8	Sytokiiniprofiili.....	11
2.1.9	Diagnostiset menetelmät.....	15
2.2	MUIDEN LAJIEN TYYPIN I YLIHERKKYYTEEN LIITTYVÄT SAIRAUDET.....	19
2.2.1	Koiran atooppinen dermatiitti.....	19
2.2.2	Ihmisen atooppinen dermatiitti.....	21
2.3	KUTINA.....	23
2.3.1	Kutinan patogeneesi.....	23
2.3.2	Kutinan kemiallisesti laukaisevat sytokiinit.....	24
2.3.3	Herkistyminen.....	27
2.3.4	Hevosen ja koiran sytokiiniprofiilit kutinassa.....	27
2.4	KESÄIHOTTUMAN JA MUIDEN LAJIEN YLIHERKKYYKSIEN HOITOVAIHTOEHDOT.....	29
2.4.1	Lääkkeelliset hoitovaihtoehdot.....	30
2.4.1.1	Oklasitinibi.....	31
2.4.1.2	Siklosporiini.....	33
2.4.1.3	Kortisoni.....	34
2.4.1.4	Antihistamiinit.....	35
2.4.2	Siedätyshoito.....	36
2.4.3	Muut hoitovaihtoehdot.....	38
<b>3</b>	<b>POHDINTA.....</b>	<b>39</b>
<b>4</b>	<b>KIRJALLISUUSLUETTELO.....</b>	<b>40</b>

## LYHENTEET

<b>5-HT</b>	serotoniini
<b>Alum</b>	alumiinin suolat
<b>anti-IgE</b>	IgE:hen sitoutuva vasta-aine
<b>CL/CH</b>	<i>constant chain</i> , IgE:n kevyen/raskaan ketjun pysyvä osa
<b>COX-2</b>	syklo-oksikenaasi, prostaglandiiniendoperoksidaasi, kipuun liitettävä entsyymi
<b>CsA</b>	siklosporiini A
<b>Culnx</b>	rekombinanttiproteiini x <i>C. nubeculosus</i> -hyönteisestä
<b>Culox</b>	rekombinanttiproteiini x <i>C. obsoletus</i> -hyönteisestä
<b>Culsx</b>	rekombinanttiproteiini x <i>C. sonorensis</i> -hyönteisestä
<b>DC</b>	<i>dendritic cell</i> , <i>dendriittisol</i> , allergeeniä esittelevä solu
<b>DRG</b>	<i>dorsal root ganglia</i> , selkäytimen dorsaalisen sarven hermokimppu
<b>EDTA</b>	etyleenidiamiinitetraetikkahappo
<b>FcεR</b>	<i>fragment, crystallizable epsilon receptor</i>
<b>FLG</b>	filaggrin-proteiini, ihon suoja-proteiini
<b>FoxP3</b>	transkriptiotekijä
<b>GPCR</b>	<i>G-protein coupled receptor</i> , G-proteiiniin liittyvä reseptori
<b>H1-4</b>	histamiinireseptorit 1-4
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	vetyperoksidi
<b>HC</b>	<i>heavy chain</i> , IgE:n raskas ketju
<b>IBH</b>	<i>insect bite hypersensitivity</i> , hevosen kesäihottuma
<b>IgA</b>	immunoglobuliini A
<b>IgE</b>	immunoglobuliini E
<b>IgGx</b>	immunoglobuliini G:n alatyypit x
<b>IGHE</b>	immunoglobuliini E:n raskaanketjun geenilokus
<b>IL-31RA</b>	interleukiini 31:n sitova reseptori
<b>IL-x</b>	interleukiini x
<b>INF-γ</b>	interferoni γ, sytokiini
<b>inj</b>	injektiovalmiste
<b>ITFCAD</b>	The International Task Force on Canine Atopic Dermatitis
<b>JAK/STAT</b>	Janus-kinaasi/ <i>Signal Transducer and Activator of Transcription</i> -signaalireitti
<b>LC</b>	<i>light chain</i> , IgE:n kevyt ketju
<b>LGL</b>	geenilokus, IgE:n kevyen ketjun geenipaikka kromosomissa
<b>LPA</b>	lysofosfotidiinihappo
<b>MHCII</b>	<i>major histocompatibility II</i> , allergeeniä esittelevä pintaproteiini
<b>MPLA</b>	monofosforyylilipidi A

<b>mRNA</b>	lähetti-RNA eli -ribonukleiinihappo
<b>NK1/3</b>	neurokiniini 1/3
<b>NK-solu</b>	<i>natural killer</i> -solu, elimistön puollustussolupopulaatio
<b>NubTH</b>	<i>C. nubeculosus</i> -hyönteisen rintaontelouute
<b>ObsWBE</b>	<i>C. obsoletus</i> -hyönteisen koko kehon uute
<b>PAR</b>	proteaasiaktivoidut reseptorit
<b>PCR</b>	polymeraasiketjureaktio
<b>RAO</b>	<i>recurrent airway obstruction</i> , hevosen alempien hengitysteiden yliherkkyyssreaktio
<b>Simvx</b>	rekombinanttiproteiini x <i>S. vittatum</i> -hyönteisestä
<b>TCR</b>	<i>T cell receptor</i> , T-solun reseptori, joka kiinnittyy MHCII-reseptoriin
<b>TDI</b>	tolueeni-2,4-diisosyanaatti
<b>TGF-β</b>	<i>tumor growth factor</i> β, sytokiini
<b>T<sub>H</sub></b>	auttaja-T-solu, CD4+ pintaproteiinia ilmentävä T-solu
<b>TLR7/9</b>	<i>toll-like receptor</i> 7/9, tulehdussolujen ja hermosolujen reseptori
<b>TNF-α</b>	<i>tumor necrosis factor alpha</i> , tuumorinekroosifaktori alfa, sytokiini
<b>TNRF1/2</b>	TNF-α:ta sitova reseptori
<b>TRPV1</b>	<i>Transient Receptor Potential Vanilloid 1</i> , hermon kalvoproteiini reseptori
<b>TSLP</b>	tymaalinen stromaalinen lymfopoietiini
<b>TYK2</b>	tyrosiinikinaasi 2
<b>UV</b>	ultravioletti
<b>VL/VH</b>	<i>variant chain</i> , IgE:n kevyen/raskaan ketjun vaihteleva osa

## 1 JOHDANTO

Eläinlääketieteen lisensiaatin tutkielmani tarkoituksena on syventyä hevosen kesäihottuman syntymekanismiin, sen molekulaariseen taustaan, geneettisyyteen ja verrata sitä koiran ja ihmisten vastaavaan yliherkkyystyyppi I:een. Tutkielmassa myös pohditaan mahdollisia hoitovaihtoehtoja sekä tutkittujen että teoreettisten hoitojen osalta, muiden lajien tutkimuksiin nojautuen.

Hevosten kesäihottuma, englanniksi *insect bite hypersensitivity* (IBH), on hevosten kontaktiyliherkkyyttä *Culicoides spp.*-lajin hyönteisille (kirjassa Foster ym. 2013 ja kirjassa Tizard 2013). Hevosen kesäihottumassa tyypillisiä oireita ovat kausiluontoinen voimakas kutina ja hankauksesta aiheutuneet karvattomat kohdat etenkin harjan ja hännän alueella, mutta myös kainaloissa ja taifeissa (kirjassa Foster ym. 2013). *Culicoides spp.* -lajin hyönteisten syljen proteiinit aiheuttavat immunoglobuliini E (IgE)-välitteisen välittömän (tyyppi I) tai viivästyneen (tyyppi IV) yliherkkyyssreaktion (kirjassa Filippe 2016, kirjassa Tizard 2013, kirjassa Foster ym. 2013, White ym. 2006). Yliherkkyyssreaktiossa herkistävä aine eli allergeeni sitoutuu spesifiseen IgE-vasta-aineeseen, joka aiheuttaa histamiinin ja muiden sytokiinien, solujen välisten pienimolekyylisten viestimolekyylien, vapautumista syöttösoluista (kirjassa Tizard 2013).

Suomessa etenkin suomenhevosilla ja poneilla esiintyy IBH:ta, kun lämpötila kohoaa hyönteisille edulliseksi (yli +10 °C) (Hallamaa 2009). *Culicoides nubeculos* ja *Culicoides obsoletus* -lajeja on raportoitu esiintyväksi Suomessa (Hay ym. 2008). Sairaus koetaan hevosen omistajien keskuudessa erittäin epämiellyttäväksi ja vaivalloiseksi. Suomessa oli hevosia vuonna 2015 n. 75 000, joista alkuperäisrotua suomenhevosia n. 20 000 (Suomen Hippos 2015). Kyselytutkimukseen vastanneista 280 hevosen omistajan tai hoitajan mukaan 247 kärsi kesäihottumasta (Marttinen 2013). Vastanneista 115 omistivat suomenhevosen tai hoitivat rodun edustajaa (Marttinen 2013).

Immunologiset sairaudet ja niiden molekulaarinen tausta ja solujen signalointi ovat edelleen valtaosin tuntemattomia, mutta uutta tietoa ja tutkimuksia julkaistaan koko

ajan. Sairauden biokemiallinen ymmärtäminen on ensimmäisiä askelia kohti hoitovaihtoehtojen kehittämistä ja sairauden hoitoa.

Yliherkistymiseen ja kutinaan ei ole lääketieteellistä täsmähoitoa ja taudinmääritys eli diagnosoiminen on haastavaa menetelmien puuttumisen vuoksi (katsauksessa Schaffartzik ym. 2012). Tehokkain tapa on välttää hyönteiskontaktia (Riek 1953). 2010-luvun tutkimukset ovat painottuneet taudinmääritysmenetelmien tutkimiseen ja allergeenipaneelin luomiseen. Vuonna 2014 van der Meide ym. julkaisivat ensimmäisen kattavan rekombinanttiproteiineilla eli laboratoriossa tuotetuilla proteiineilla tehdyn allergiapaneelin, jolla on hyvä sensitiivisyys ja spesifisyys. Lisäksi uusimmat tutkimukset käsittelevät tehokkaampaa siedätyshoitoa (Jonsdottir ym. 2015, 2016a ja 2016b).

## **2 KIRJALLISUUSKATSAUS**

### **2.1 HEVOSEN KESÄIHOTTUMA**

Kesäihottuman diagnosoiminen hevosilla on perustunut tähän asti hevosen historiaan, maantieteelliseen sijaintiin sekä kliiniseen yleistutkimukseen (kirjassa Foster ym. 2013 ja White ym. 2013). 2010-luvulla on kehitetty allergeeniprofiileja, jotta yliherkkyyden diagnosointi voitaisiin tehdä veren spesifisten IgE:n avulla varmasti ja luotettavasti.

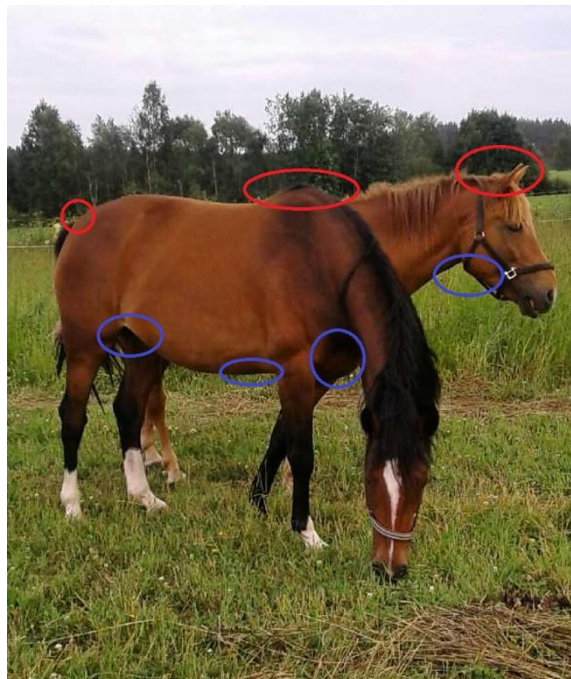
#### **2.1.1 Signalementti eli ulkoiset ominaisuudet**

Kesäihottumahevosen oireilu alkaa nuorena, 2-4 vuotiaana (kirjassa White ym. 2006), mutta voi puhjeta myös myöhemmin, kun hevonen altistuu *Culicoides spp.* -lajin hyönteisille (kirjassa Felipe 2016). Tutkimustulokset sukupuolen vaikutuksesta kohonneeseen kesäihottuman riskiin ovat ristiriitaisia: ruotsalaisen tutkimuksen mukaan ruunat omaavat korkeamman riskin kehittää yliherkkyyden (Eriksson ym. 2008), kun taas suomalaisen tutkimuksen sukupuolijakauma oli varsin tasainen (Hallamaa 2009). Myös useammassa vanhemmassa tutkimuksessa on todettu sukupuolen vaikuttamattomuus yliherkkyyden syntyyn (Riekin 1953, Broström ym. 1987, Andersson

ym. 1988, Halldórsdóttir ja Larssen 1991 sekä Steinman ym. 2003). Riskirotuina pidetään islanninhevosia, shirehevosia, friisiläisiä, arabialaisia, quater-hevosia sekä shetlanninponeja (kirjassa Froster ym. 2013) sekä Suomessa pohjoismaisia rotuja kuten suomenhevosia (Hallamaa 2009). Kesähottumaa on raportoitu myös puoliverisillä, lämminverisillä ja muilla poniroduilla (kirjassa Felipe 2016). Ali- tai ylipainoisilla hevosilla voi olla kohonnut riski sairastua kesähottumaan (Schurink ym. 2013).

### 2.1.2 Kliiniset oireet

Oireilu on kylmillä alueilla kausittaista (kirjassa White ym. 2006) ja ajoittuu Suomessa touko-lokakuuhun (Hallamaa 2009). Kliinisiä ihovaurioita ja karvattomia alueita on pyritty jaottelemaan oireyhtymiin niiden esiintymispaikkojen mukaan: 1) tyyppi I, jossa hevosella on dorsaalista karvattomuutta eli hännän, niskan ja selän alueella esiintyviä vaurioita; 2) tyyppi II, jossa ventraalista karvattomuutta esiintyy leuan alla, rinnassa, mahassa sekä nivusissa sekä 3) tyyppi III, jossa esiintyy sekä tyypin I että tyypin II oireita (kirjassa Foster ym. 2013). Oireyhtymientyyppi vaihtelee alueella elävien *Culicoides spp.* -lajin pistomieltymyksen mukaan (kirjassa White ym. 2006). Kuvassa 1. on esitetty tyyppien 1 ja 2 tyypilliset leesiokohdat.



Kuva 1. Oireyhtymätyypin I leesiokohdat merkitty punaisin ja tyypin II sinisin ympyröin. Tyyppi III vauriokohdat ovat punaisten ja sinisten ympyröiden sekoitus.



### 2.1.3 Sijainti ja ympäristö

Hevosen pitopaikan maantieteellinen sijainti ja ympäristö vaikuttavat yhtenä osana taudin määrittämiseen (kirjassa White ym. 2006). Hevosen sijainti *Culicoides spp.* -lajin esiintyvyyalueella sekä kosteikko tai vesialue ja metsikkö pitopaikan läheisyydessä tukee kesäihottumadiagnoosia (kirjassa Foster ym. 2013 ja White ym. 2006). *Culicoides spp.* -lajista vapailla alueilla, kuten Islannissa, Uudessa Seelannissa ja Antarktiksella, yliherkkyyttä ei esiinny (kirjassa Felipe 2016). Kesäihottumasta kärsivien hevosten esiintyvyys vaihtelee Iso-Britannian 3 %:sta Australian Queenslandin 60 %:iin (kirjassa Felipe 2016).

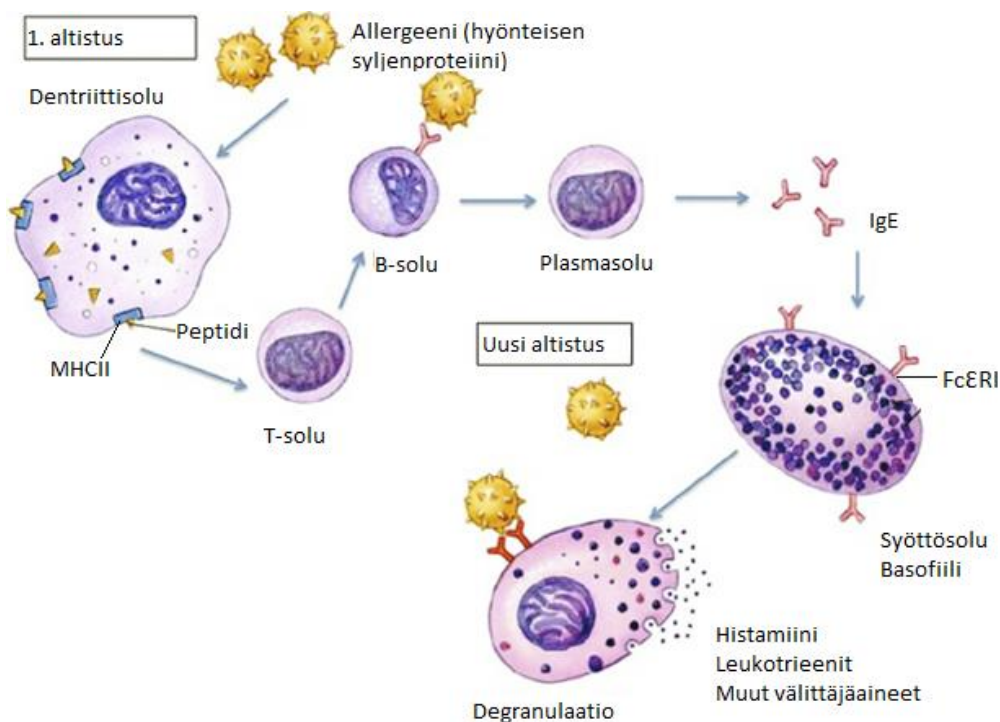
### 2.1.4 Erotusdiagnoosit

Erotusdiagnoosit eli vaihtoehtoiset taudit on poissuljettava ennen kesäihottuman diagnosointia (kirjassa Foster ym. 2013 ja White ym. 2006). Niitä ovat voimakasta kutinaa aiheuttavat ektoparasiitit eli ulkoloiset; varastopunkit, *Oxyuris equi* -infektio (munat iholla) ja kanapunkit (kirjassa Foster ym. 2013) sekä muut ihon tulehdukset, kuten dermatofytoosi eli sieninfektiot (etenkin, jos pitopaikan muillakin eläimillä on oireita) ja toissijaiset stafylokokki-ihoinfektiot (kirjassa White ym. 2006).

Myös sisäloiset on poissuljettava ivermektiini-lääkityksellä (kirjassa White ym. 2006). Suomessa sisäloisilla on raportoitu vastustuskykyä lääkeaineille ja siksi ulostenäytteeseen perustuvaa loishäätölääkitystä suositellaan (SEP 2016). Sisäloiset voivat aiheuttaa IgE:n tasojen nousua ja iho-oireita (katsauksessa Wagner 2009). Huonoihin tallitapoihin voi kuulua neurologinen hankaus, joka on myös suljettava pois ennen kesäihottumadiagnoosia (kirjassa White ym. 2006). Iho-ongelmia voi aiheuttaa myös ruoka-aineallergia, joka on suljettava pois eliminaatiodietillä (kirjassa White ym. 2006). Ruoka-aineallergia voi vaikuttaa kausittaiselta rehun laadun vaihdelleessa, mutta rehun koostumuksen pysyessä samana allergia oireilee jatkuvasti toisin kuin kesäihottuma (kirjassa Foster ym. 2013).

### 2.1.5 Patogeneesi

Seuraavassa kappaleessa käsitellään kesäihottuman patogeneesia eli taudin syntyä. Kesäihottuma on IgE-välitteistä kontaktiylherkkyyttä (yliherkkyystyyppi I) *Culicoides spp.*-lajin hyönteisille. Hevosien ihon kohdatessa allergeenin, ihon naiivit eli erilaistumattomat puollustussolut tunnistavat omista peptideistä eli valkuaisaineista poikkeavan proteiinin. Antigeenin esittelijäsolut eli dendriittisolut (engl. *dendritic cell*, DC) syövät eli fagosytoivat allergeenin ja pilkkovat sen pienemmiksi peptideiksi. Dendriittisolu vaeltaa pieneksi pilkotun allergeenipeptidin kanssa lähimpään imusolmukkeeseen, jossa tapahtuu allergeenipeptidien esittely naiiville T-solulle major histocompatibility (MHC) II-esittelijäpintaproteiinin avulla. Naiivi CD4+ T-solu eli auttaja-T-solu ( $T_H$ ), joka tunnistaa MHCII:n esittelemän peptidin, kypsyä vallitsevan sytokiiniprofiilin mukaisesti eri auttaja-T-solujen alapopulaatioksi: tällä hetkellä tunnistetaan  $T_H1$ ,  $T_H2$ ,  $T_H17$  ja  $T_{reg}$  -alipopulaatiot. T-solut esittelevät allergeenin erilaistumattomille B-soluille, jotka kypsyvät vasta-aineita tuottaviksi plasmak soluiksi. T-solujen



Kuva 2. Tyypin I yliherkkyyksireaktion kulku allergeenin tunnistamisesta B-solujen vasta-ainetuotantoon. MHCII = major histopatologycomplex II, IgE = immunoglobuliini-E, FcεRI = basofiilissä/syöttösuluissa oleva IgE:tä sitova reseptori. Kuva mukautettu Pedrosa ym. 2014.

alapopulaatiot ohjailevat sytokiinituotantoa ja B-solujen vasta-aineluokan kääntymistä kesäihottumassa IgE:n puolelle, tarkempi kuvaus T-solujen vaikutuksesta kappaleissa Hevosen immunoglobuliini E, Sytokiiniprofiilit sekä taulukossa I. Kuvassa 2. on havainnollistettu immunireaktion kulku allergeenin ensimmäisestä altistuksesta uuteen altistukseen ja degranulaatioon eli sytokiinien vapautumiseen. (Kirjassa Felipe 2016)

Hevosen ihon altistuessa hyönteisen syljen proteiineille, immunisysteemi käy läpi vasta-aineiden luokan vaihdoksen immunoglobuliini G:stä (IgG) ja A:sta (IgA) immunoglobuliini E:hen (kirjassa Tizard 2013). Luokanvaihdokseen vaikuttaa sekä vallitseva sytokiiniprofiili että T-soluprofiilin jako, sillä epänormaali jakautuminen auttaja-T-solujen alapopulaatioiden välillä aiheuttaa IgE:n tuotannon kasvamista (kirjassa Tizard 2013). T<sub>H</sub>2-solujen lisääntynyt tuotanto vallitsevan sytokiiniprofiilin myötä aiheuttaa IgE-vasta-aineiden lisääntyneen tuotannon B-soluissa (Hamza ym. 2008) ja regulatoristen eli hillitsevien sytokiinien puute aiheuttaa T<sub>reg</sub>-solujen vähentymistä kesäihottumahevosilla (Hamza ym. 2008 ja 2011).

IgE sitoutuu korkealla reaktiivisuudella eli affiniteetillä FcεRI- reseptoriin (engl. *fragment, crystallizable epsilon receptor 1*) sekä matalammalla affiniteetillä FcεRII- reseptoriin. Vapaata IgE:tä on veressä vähän, sillä se on sitoutunut jo ilman allergeeniä reseptoriinsa. FcεRI-reseptoria esiintyy basofiileissä ja syöttösoluissa ja FcεRII-reseptoria B-soluissa, natural killer -soluissa (NK-solut), magrofageissa, dendriittisoluuissa, eosinofiileissa ja verihiutaleissa. Sitoutuessaan syöttösolun tai basofiilin pintaan antigeenistimulaation seurauksena, IgE-allergeenikompleksi laukaisee vasoaktiivisten eli verisuoniin vaikuttavien amiinien degranulaation. Vasoaktiivisia amiineita ovat mm. histamiini, leukotrieenit, hepariini sekä proteolyttiset eli proteiineja pilkkovat entsyymit ja ne aiheuttavat nokkosihottumaa eli urtikariaa hevosen iholla sekä kutinaa. (Kirjassa Felipe 2016)

#### 2.1.6 Major histocompatibility II – allergeenipeptidin esittelijäproteiinin rooli

Ihon naiivien dendriittisolujen kohdatessaan allergeenin, tapahtuu tunnistus, fagosytointi ja pilkkominen (kirjassa Felipe 2016). Dendriittisolut vaeltavat imusolmukkeisiin ja esittelevät pilkotun allergeenipeptidin lymfosyyteille (kirjassa

Felippe 2016). Fagosytoitu, pilkottu peptidi esitellään MHCII-molekyylillä CD4<sup>+</sup>T-soluille T-solun pintareseptorin, *T cell reseptor*:n (TCR), avulla (kirjassa Felipe 2016). Samalla kypsä dendriittisolu erittää sytokiineja, jotta naiivi T<sub>H</sub>-solu erilaistuu antigeenin vaatimaksi alapopulaatioksi (kirjassa Felipe 2016). MHCII-pintaproteiinia ekspressoidaan myös B-solujen ja makrofagien pinnalla (kirjassa Tizard 2013).

MHCII-pintaproteiini muodostuu  $\alpha$ - ja  $\beta$  -alayksiköistä, joista  $\alpha$ -alayksikkö on antigeenia sitova osa (kirjassa Tizard 2013). Alayksikköjä koodaavat geenit ELA-DRA ja ELA-DRB sijaitsevat kromosomissa 20 ja heterotsygoottiset eli vastingeeniltään erilaiset geenit voivat esitellä suuremman määrän antigeenejä kuin homotsykoottit eli vastingeeniltään samanlaiset (kirjassa Tizard 2013). Andersson ym. (2012) osoittivat, että hevosilla homotsykoottisuus ELAI-luokan alueella (koko MHCII-molekyyliä koodaavalla geenialueella) on riski kehittää IgE-välitteinen yliherkkyys *Culicoides spp.* -lajin hyönteisille. Tutkimuksessa käytettiin islanninhevosia ja exmoorinponeja populaation geenistön harhan vähentämiseksi (Andersson ym. 2012).

#### 2.1.7 Immunoglobuliini E

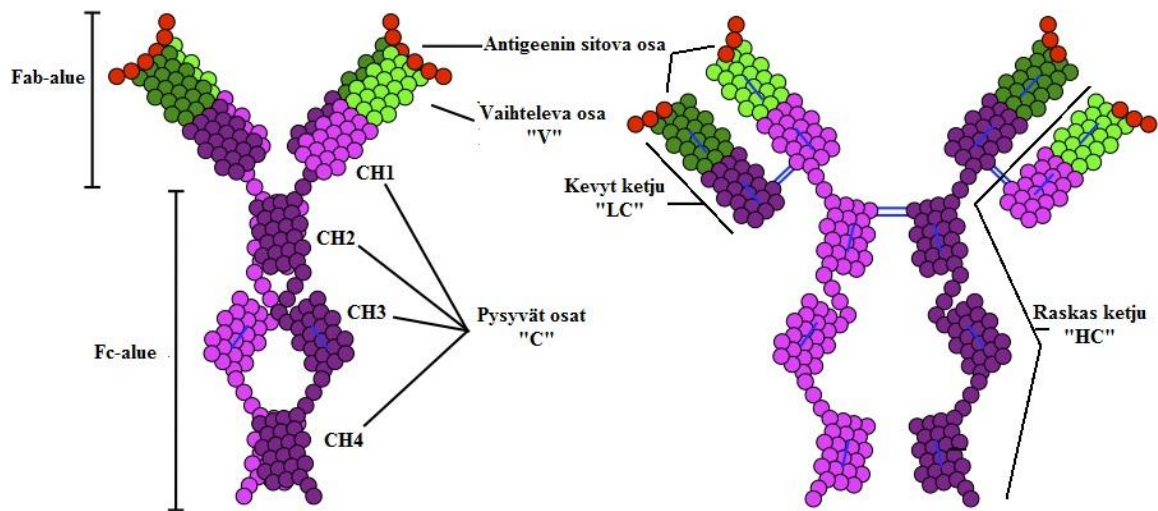
Vaikka hevosen seerumin kokonais-IgE-määrä on 1000-kertainen ihmisen vastaavaan verrattuna, pelkkä hevosen seerumin IgE-määrää mittaava testi ei riitä kesäihottuman diagnosointiin (katsauksessa Wagner 2009). Korkeampi seerumin kokonais-IgE-määrän on ajateltu johtuvan hevosten suuremmasta endoparasiitti- eli sisäloiskuormituksesta. Hypoteesia tukee myös lampaiden korkeat kokonais-IgE-määrät sekä korkea sisäloiskuormitus (Shaw ym. 1997). Hevosen IgE:lla on lyhyt puoliintumisaika, 2 vuorokautta (kirjassa Tizard 2013), mikä johtuu IgE:n korkeasta affiniteetistä sitoutua syöttösolujen ja basofiilien pintaproteiiniin Fc $\epsilon$ RI-reseptoriin (katsauksessa Ravetch ja Kiner 1991). Seerumin kokonais-IgE-tasojen erot kesäihottumasta kärsivien ja kliinisesti terveiden välillä ovat ristiriitaisia: eroja kokonais-IgE:n määrissä on sekä havaittu (Wilson ym. 2006) että ei (Wagner ym. 2003).

Hevosen IgE on Y:n muotoinen, neljästä ketjusta (kahdesta kevyestä ja kahdesta raskaasta: LC eli *light chain* ja HC eli *heavy chain*) muodostuva antigeenispesifinien vasta-aine, jota erilaistuneet B-solut eli plasmassolut tuottavat saatuaan

antigeenisignaalin kypsyneiltä dendriittisoluilta tai T-soluilta (kirjassa Tizard 2013). Kevyet ketjut koostuvat vaihtelevasta osasta (*variant chain*, V) ja pysyvästä osasta (*constant chain*, C) eli VL+CL (kirjassa Tizard 2013). Kevyitä ketjuja on tunnistettu kahta tyyppiä,  $\lambda$ :a ja  $\kappa$ :a. Hevosen kevyistä ketjuista yli 90 % ovat  $\lambda$  -ketjuja, joita koodaa geenialue eli lokus LGL (katsauksessa Wagner 2006, kirjassa Tizard 2013). Kevyen ketjun geenin paikka kromosomissa ja lokus LGL sisältää kolme koodaavaa aluetta C, J ja V. (katsauksessa Wagner 2006). Geenejä on C-alueella 4 (3 toiminnallista), J-alueella 3 ns. ”joining gene” (yksi kutakin C-sekvenssiä vastaavaa) sekä 20-30 V-alueella (katsauksessa Wagner 2006).

Raskaat ketjut puolestaan koostuvat yhdestä antigeeniä sitovasta vaihtelevasta osasta ja neljästä pysyvästä osasta (VH+CH1+CH2+CH3+CH4) (kirjassa Tizard 2013). Hevosten kaikkien vasta-aineiden raskaineiden ketjujen pysyvien C-ketjujen geenit sijaitsevat kromosomissa 24 (Wagner ym. 2004). IgE:n raskaan ketjun pysyvää osaa vastaa yksi geeni, IGHE (*immunoglobuliin heavy chain E*), (Wagner ym. 1997), joka sijaitsee immunoglobuliini G:n alatyypin 5:n (IgG5) ja immunoglobuliini A:n (IgA) raskaita ketjuja koodaavien C-geenien välissä (Wagner ym. 2004). IGHE-geeni sisältää neljä koodaavaa geenijaksoa eli eksonia, jotka koodaavat IgE:n raskaan ketjun neljää allotyypiproteiinia, CH1, CH, CH3 ja CH4 (katsauksessa Wagner 2009). Kaikkien eksonien nukleotidijärjestys on selvitetty ja näiden allotyyppien koodaavien nukleotidiyhtäläisyys vaihtelee 95,9-99,8 %:n välillä (Navarro ym. 1995, Watson ym. 1997 ja Wagner ym. 2001). Alleelien vaikutusta IgE:n toimintaan ei ole kuitenkaan pystytty selvittämään, eli sitä, mikä alatyypin vaikuttaa missäkin yliherkkyysoireissa (katsauksessa Wagner 2009). Toisin kuin IgG:lla ja IgA:lla, IgE:llä ei ole joustavaa ”hinge”-jaksoa CH1 ja CH2 välissä (Janeway ym. 2001).

Biokemiallisesti hevosen IgE:n raskaassa ketjussa on kuusi (IgE03 allotyypissä viisi) potentiaalista N-glykosylaatiokohtaa (katsauksessa Wagner 2009). Kohdista N270:n on havaittu toiminnollisesti tärkeänä glykosylaatiokohtana. Kohdan glykolysaatio mahdollistaa IgE:n laskostumisen siten, että sitoutuminen IgE-reseptoriin on mahdollista (Sayers ym. 1998).



Kuva 3. Hevosen IgE:n rakenne. Fab-alue = allergeenin sitova osa IgE:stä, Fc-alue = Fc-reseptoriin sitoutuva osa IgE:stä, CH1-4 = raskaan ketjun pysyvöosa, V = vaihteleva osa (antigeenia sitova), LC = kevyt ketju, HC = raskas ketju. Kuva mukautettu Sabban 2011.

IgE:n kevyt ketju ja raskaan ketjun V- ja CH1 -osat muodostavat ns. Fab-alueen, eli allergeenin sitovan alueen ja raskaanketjun CH2-CH3-CH4 -osat muodostavat Fc-reseptoriin sitoutuvan alueen eli ns. Fc-alueen (kirjassa Tizard 2013). Kuvassa 3. on havainnollistettu IgE:n rakennetta.

2000-luvun alussa kehitetyt vasta-aineet hevosen IgE:n mittaamiseen ovat toimineet hyvin (katsauksessa Wagner 2009). Erityisesti yhden solukloonin tuottamat eli monoklonaliset vasta-aineet ovat herkkiä mittaamaan IgE-määriä ja niitä on käytetty apuna tutkittaessa leukosyyttejä, jotka ovat jo sitoneet FcεRI:hin IgE:n (Wagner ym. 2003 ja Wilson ym. 2006). Toisaalta ihotestissä huomattiin eroja hiiressä tuotetuissa monoklonalisissa vasta-aineissa: IgE:hen sitoutuva vasta-aine eli anti-IgE 134 aiheutti välittömän ihoreaktion, mutta anti-IgE 176 ei aiheuttanut ihoreaktiota (Wagner ym. 2006b). Vasta-aineissa käytettiin eri IgE:n raskaan ketjun allotyyppejä ja anti-IgE 176 ei ristireagoi leukosyytin FcεRI:n kanssa sitoutuneeseen IgE:hen (Wagner ym. 2006b). Johtuen IgE:n korkeasta affiniteetistä sitoutua leukosyyttien IgE-reseptoreihin, Wagner ym. (2003) tutkivat leukosyyttijakaumaa sekä kliinisesti terveillä että kesäihottumaa oireilevilla hevosilla. IgE:tä sitoivista soluista 32 % olivat basofiilejä, 53 % monosyyttejä, 13 % pieniä lymfosyyttejä ja vain 2 % eosinofiilejä (Wagner ym. 2003). Terveiden ja kesäihottumaoireisten hevosten välillä ei ollut tilastollisesti merkittäviä eroja

leukosyyttijakaumassa (Wagner ym. 2003). Basofiitit ja syöttösolut (erilaistuneet monosyytit) sitovat IgE:n pintaproteiini reseptoriinsa Fc-alueelta (kirjassa Felipe 2016).

Neonatalivarsoilla ei ole sisäsyntyisesti mitattavissa tasoissa olevaa IgE:tä (Wagner ym. 2003). Tutkimuksen varsat olivat koko kesän kliinisesti terveiden tai vakavasti kesäihottumasta oireilevien emojensa kanssa alueella, missä tavattiin paljon yliherkkyyttä aiheuttavaa *Culicoides spp.* -lajia (Wagner ym. 2003). 2-5 päivän iässä ternimaidosta saatavat IgE-vasta-aineet kohoavat veressä, mutta määrä laskee taas varsan saavuttaessa 2-4 kuukauden iän (Wagner ym. 2003). Maternaalinen eli emon maidosta saatava IgE sitoutuu heti imeytyttyään varsan syöttösolun pinnalla oleviin FcεRI-reseptoreihin (Wagner ym. 2009) ja voi olla, että maternaaliset vasta-aineet vaikuttavat neonatalin immuunipuolustuksen säätelyyn (Wagner ym. 2006a).

IgE:n määrää on pohdittu myös muissa sairauksissa kuin pelkästään kesäihottumassa. IgE:n noususta parasiitti-infektioissa ei ole paljon tutkimuksia, mutta asiaa pohdittu sitäkin enemmän (katsauksessa Wagner 2009). IgG:n nousua parasiitti-infektiossa on raportoitu (katsauksessa Wagner 2009), mutta syy vasta-aineen luokanvaihdokseen on epäselvä. *Recurrent airway obstruction* (RAO) on hevosen alempien hengitysteiden yliherkkyyssreaktio, jonka aiheuttaa sisäänhengitetyt homeet ja pöly (Derksen ym. 1988 ja Pirie ym. 2003). Sisäänhengitetty allergeeni aiheuttaa noin 6 tunnin päästä mukuksen eli liman liikatuotantoa, neutrofiilien kerääntymistä keuhkoihin, keuhkoputkien eli bronkkien ylireagoimista ja bronkospasmia eli keuhkoputkien sileiden lihaksen supistumista (Gerber ym. 2004). Kokonais-IgE:n määrä ei eroa terveiden tai RAO:sta kärsivien hevosten välillä (Eder ym. 2001 ja Curik ym. 2003) ja *Aspergillus*-homespesifistä IgE:tä tavataan samoissa elinolosuhteissa olevilla sekä kliinisesti terveillä että oireilevilla hevosilla (Halliwell ym. 1993 ja Schmallenbach ym. 1998). Kappaleesta tehty yhteenveto on esitetty taulukossa I: Hevosen immunoglobuliini E.

Taulukko I. Hevosen immunoglobuliini E - tiivistelmä

Yhteenveto	
<b>Hevosten IgE vs ihmisten IgE</b>	Hevosilla on ihmisiä runsaampi IgE-pitoisuus seerumissa.
<b>IgE:n mittaaminen</b>	On kehitetty hyvin toimivia monoklonaalisia vasta-aineita
<b>IgE kesäihottumahevoseet vs IgE terveet</b>	Ristiriitaisia tutkimustuloksia
<b>Rakenne</b>	Raskaan ketjun allotyypin ja niiden biokemiallisten ominaisuuksien vaikutus epäselvä
<b>Sitovat leukosyytit</b>	Leukosyyttien erittelylaskennassa ei havaittu eroja kesäihottumahevosten ja terveiden välillä
<b>Sisäsyntyisyys</b>	IgE:n tuotanto hankittua immuniteettiä
<b>Muut sairaudet</b>	IgE:n nousua myös muissa sairauksissa, patogeenesi epäselvä

#### 2.1.8 Sytokiini-profiili

Tyyppin I yliherkkyyssreaktiossa antigeeniä esittelevä MHCII -pintaproteiini saa aikaan T-auttajasolujen aktivaation, joka puolestaan aktivoittaa vasta-ainetta tuottavia B-soluja. Kesäihottumassa T-auttajasoluprofiili painottuu  $T_H2$ -solujen puolelle, joka aiheuttaa B-solujen vasta-ainetuotannon kääntymisen IgE:n tuottamiseen IgG:n ja IgA:n sijasta. Myös muut solut tuottavat tulehduksessa sytokiineja: makrofagit, dendriittisolut, muut leukosyytit sekä epiteelisolut. Tärkein sytokiini T-auttajasolujen alapopulaatioiden erilaistumiselle on interleukiini 12 (IL-12), jonka ilmentäminen eli ekspressointi lisää  $T_H1$ -solujen määrää suhteessa  $T_H2$ -solumäärään. Tätä sytokiinia tuottavat makrofagit, dendriittisolut, neutrofiilit sekä B-solut. (kirjassa Tizard 2013)

Hevosilla on tähän mennessä todettu T-auttajasoluja neljää eri alapopulaatiota:  $T_H1$ -,  $T_H2$ -,  $T_H17$ - sekä  $T_{reg}$ -subpopulaatiot (kirjassa Tizard 2013). Ihmisillä T-auttajasolujen alapopulaatioita on todettu enemmän (kirjassa Leung ja Hon 2011). T-auttajasolut jaetaan alapopulaatioihin tuottamiensa sytokiinien profiilin mukaan.



T<sub>H</sub>2-solut tuottavat pääasiassa sytokiineja IL-4, IL-5, IL-10 ja IL-13, joista erityisesti IL-4, IL-5 ja IL-13 sytokiinit tehostavat B-solujen vasta-aineluokanvaihdosta IgE:hen. Sytokiineista IL-4 stimuloi myös vasodilataattoreita vapauttavia syöttösoluja ja on mukana erilaisissa tulehdusvasteissa. T<sub>H</sub>1-solut puolestaan tuottavat sytokiineja IL-2, interferoni  $\gamma$  (INF- $\gamma$ ) ja tuumorinekroosifaktori  $\alpha$  (*tumor necrosis factor alpha*, TNF- $\alpha$ ); regulatoriset T-solut (T<sub>reg</sub>) tuottavat sytokiineja IL-10, *tumor growth factor*  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) ja transkriptiotekijää FoxP3; T<sub>H</sub>17-solut tuottavat pääsääntöisesti sytokiinia IL-17. (kirjassa Tizard 2013)

T<sub>H</sub>2-solujen tuottama IL-4 stimuloi syöttösoluja vapauttamaan histamiinia ja muita vasoaktiivisia aineita sekä B-soluja tuotamaan IgE:tä muiden vasta-aineluokkien sijaan. IL-5 ja IL-13 stimuloivat myös B-solujen IgE-vasta-ainetuotantoa ja lisäksi IL-5 stimuloi ja mobilisoi eosinofiilejä ja IL-13 hillitsee makrofagien toimintaa. IL-10 puolestaan inhiboi T<sub>H</sub>1-solujen toimintaa ja hillitsee myös makrofagien toimintaa. T<sub>H</sub>1-solujen tuottama IL-2 stimuloi regulatiivisia T-soluja, B-soluja, NK(natural killer)-soluja ja makrofageja. INF- $\gamma$  paitsi stimuloi NK-soluja ja T<sub>H</sub>1-soluja entisestään, myös inhiboi T<sub>H</sub>2-soluja, lisää antigeenien esittelyä MHCII-kompleksilla sekä stimuloi B-solujen vasta-aineiden luokanvaihdosta. TNF- $\alpha$  puolestaan inhiboi sekä T<sub>H</sub>1- että T<sub>reg</sub>-soluja vähentämällä suoraan IL-10:n tuotantoa ja aiheuttaa myös vasta-aineiden luokanvaihdosta (Tizard 2013). T<sub>H</sub>17-solujen tuottama IL-17 on B-solujen auttajasolujen ja tulehduksen säätelijä, mutta tutkimustieto on rajallinen. T<sub>reg</sub>-solujen tuottama IL-10 puolestaan inhiboi T<sub>H</sub>1-soluja ja vähentää makrofagien aktiivisuutta, TGF- $\beta$ 1 aiheuttaa solukuoleman yhdessä kohdesolun sisäisen signaloinnin kanssa ja rajoittaa siten tulehdusalueita. FoxP3-transkriptiotekijä auttaa T<sub>reg</sub>-soluja kehittymään ja erilaistumaan. T-solujen tuottamat sytokiinit ja niiden aiheuttama soluvaste on taulukoitu taulukkoon II. (kirjassa Tizard 2013)

Kesäihottumaa sairastavilla hevosilla T-solujen kokonaismäärä ja T-auttajasolujen kokonaismäärä on korkeampi verrattuna kliinisesti terveisiin hevosiin (Heinmann ym. 2011) tai määrissä ei ole eroa (Meulenbroeks ym. 2013). Syyksi on epäilty taudin kuvaa: akuutissa vaiheessa voidaan havaita T-solujen määrien kohoamista kun taas kroonisissa leesioissa T-solujen tasapaino on jo saavutettu (Meulenbroeks ym. 2013). Pohdintaa tukevia todisteita on todettu ihmisten atooppisessa dermatiitissä: taudin akuutissa

Taulukko II. T-solujen tuottamat sytokiinit ja sytokiinien vaste

Solu	Sytokiinituotanto	Vaste
<b>T<sub>H</sub>1</b>	IL-2	Stimuloi T <sub>reg</sub> -soluja, B-soluja, NK-soluja ja makrofageja
	INF- $\gamma$	Stimuloi NK- ja T <sub>H</sub> 1 -soluja sekä makrofageja, inhiboi T <sub>H</sub> 2- soluja, lisää antigeeniesittelyä, B-solujen vasta-aineiden luokanvaihdos
	TNF $\alpha$	Inhiboi IL-10 tuotantoa, B-solujen vasta-aineiden luokanvaihdos
<b>T<sub>H</sub>2</b>	IL-4	Luokanvaihdos IgE:hen, stimuloi syöttösoluja
	IL-5	Luokanvaihdos IgE:hen, stimuloi ja mobilisoi eosinofiileja
	IL-10	Supressoi T <sub>H</sub> 1-soluja, suppressoi makrofagien toimintaa
	IL-13	Luokanvaihdos IgE:hen, suppressoi makrofagien toimintaa
<b>T<sub>H</sub>17</b>	IL-17	Potentiaalisia B-solujen auttajia, säätelee tulehdusta
<b>T<sub>reg</sub></b>	IL-10	Supressoi T <sub>H</sub> 1-soluja, suppressoi makrofagien toimintaa
	TGF $\beta$ 1	Aiheuttaa solukuolemaa (yhdessä kohdesolun kanssa), inflamaation rajoittaminen
	FoxP3	T <sub>reg</sub> -solujen kehittyminen (transkriptiotekijä)

vaiheessa T-auttajasoluprofiili on painottunut T<sub>H</sub>2-puolelle kun taas kroonisessa taudissa painotus on T<sub>H</sub>1-puolella (Brandt ym. 2011).

Sytokiiniprofiileissa on ristiriitaisia tutkimuksia: sytokiini IL-4 nousi kesäihottumakaudella sekä terveillä että sairailta hevosilla (Meulenbroeks ym. 2013), akuuteissa leesioissa terveiden ja sairaiden välillä ei havaittu eroja (Heinmann ym. 2011). Sytokiineista IL-13:n määrä on kesäihottumahevosilla akuuteissa leesioissa korkeampi (Heinmann ym. 2011), kroonisissa matalampi kesäihottumakaudella (Meulenbroeks ym. 2013) ja IL-10-määrä matalampi akuuteissa leesioissa kesäihottumahevosilla kuin kontrollihevosilla (Heinmann ym. 2011). Sytokiineista IL-4:n,

Taulukko III. Kesäihottumahevosten tasot vrt kontrolleihin, Meulenbroeks ym. 2013 kroonisissa leesioissa kesäihottumakaudella (IBH-kausi) ja ns. off season-aikana, jolloin kesäihottumaa aiheuttavia hyönteisiä ei esiinny, Heinmann ym. 2011 akuuteissa leesioissa.

Sytokiini/solu	Meulenbroeks ym. 2013 krooniset leesiot		Heinmann ym. 2011 akuutit leesiot
	IBH-kausi	off season	
<b>Kokonais-T-solumäärä</b>	ei havaittu eroa	ei havaittu eroa	korkeampi
<b>Kokonais-T- auttajasolumäärä</b>	ei havaittu eroa	ei havaittu eroa	korkeampi
<b>IL-4</b>	ktr+IBH nousu	ei havaittu eroa	ei eroa
<b>IL-13</b>	matalampi	ei havaittu eroa	korkeampi
<b>IL-10</b>	ei havaittu eroa	ei havaittu eroa	matalampi
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	ktr+IBH nousu	ei havaittu eroa	ei eroa
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	-	-	ei eroa
<b>FoxP3</b>	ei havaittu eroa	ei havaittu eroa	korkeampi

IFN- $\gamma$ :n ja TGF- $\beta$ :n sekä FoxP3:n määrät eivät eroa kliinisesti sairaiden ja terveiden välillä (Heinmann ym. 2011 ja Meulenbroeks ym. 2013), mutta kesäihottumakaudella IL-4:n sekä IFN- $\gamma$ :n määrät nousivat sekä kesäihottumasta kärsivillä että kliinisesti terveillä hevosilla (Meulenbroeks ym. 2013). Heinmannin ja Meulenbroeksin tutkimusryhmän tulokset on koottu taulukkoon III.

Tutkimustulokset Meulenbroeks ym. (2013) ja Heinmann ym. (2011) antavat viitteitä akuuttien ja kroonisten leesioden eri toimintamekanismista hevosten kesäihottumassa. Akuuteissa leesioissa nähdään T<sub>H</sub>2-soluille tyypillistä IL-13:sta, mutta vähemmän T<sub>H</sub>1-soluja supressoivaa IL-10:ä (Heinmann ym. 2011). Lisäksi nähdään T<sub>reg</sub>-soluille tyypillistä FoxP3-transkriptoritekijää, jonka tuotanto stimuloi T<sub>reg</sub>-solujen toimintaa ja kehittymistä (Heinmann ym. 2011). Kroonisissa leesioissa taas ainoa ero nähtiin kesäihottumakaudella kliinisesti terveiden ja sairaiden välillä IL-13 -sytokiinin kohdalla,

joka oli matalampi kliinisesti sairailta ja viittaa  $T_H2$ -solujen vähentymiseen kesäihottumahevosilla (Meulenbroeks ym. 2013).

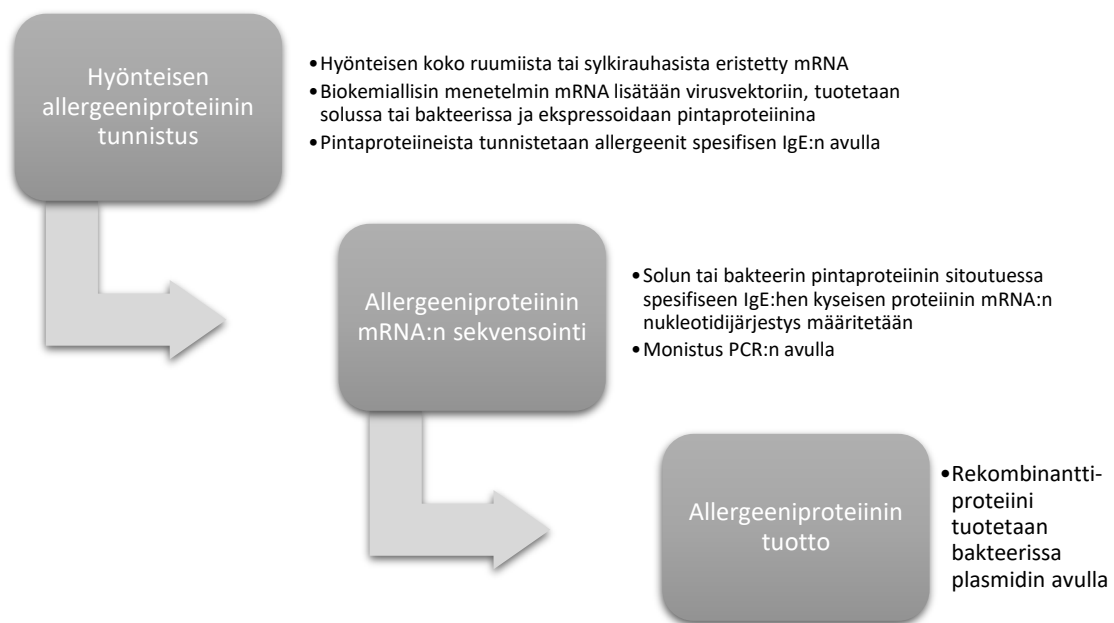
### 2.1.9 Diagnostiset menetelmät

Diagnostista menetelmää kesäihottuman toteamiseen ei ole vielä praktikoille saatavissa (White ym. 2006, katsauksessa Schaffartzik ym. 2012 ja kirjassa Foster ym. 2013). Histologia ja dermatopatologia ovat suuntaa antavia, mutta eivät diagnostisia (White ym. 2006 ja kirjassa Foster ym. 2013). Histologiassa eosinofiilejä voi olla kesäihottumahevosilla normaalia enemmän (kirjassa Foster ym. 2013). Seerumin vapaata, kokonais- tai spesifisen IgE-määriä mittaamalla ei voida diagnosoida kesäihottumaa (Wagner ym. 2003 ja Frey ym. 2008), vaikka siitä kärsivillä islanninhevosilla IgE:n määrä on korkeampi kuin terveillä verrokeilla (Wilson ym. 2006). Intradermaalitestissä eli ihotestissä puolestaan on matala spesifisyys (korkea väärän positiivisen tuloksen mahdollisuus) (Wagner ym. 2009), mutta testi on yleisesti hyväksytty tukemaan kesäihottumadiagnoosia ja testistä on olemassa ns. golden standart -menetelmä (kirjassa Foster ym. 2013).

Uusin diagnostiseksi menetelmäksi ehdotettu tutkimus on entsyymivälitteinen immunosorbenttimääritys eli ELISA (Peeters ym. 2013, van der Meide ym. 2014 ja Marti 2014). Menetelmällä määritetään allergeenispesifinen IgE tuotetuilla allergeeniproteiineilla (Peeters ym. 2013, van der Meide ym. 2014 ja Marti 2014). 2010-luvulla kesäihottumatutkimus on keskittynyt allergeenipaneelin kehittämiseen, jolla voitaisiin *in vitro* diagnosoida kesäihottuma luotettavasti. Allergeenejä on eristetty ja karakterisoitu tähän mennessä *S. vittatumista* (Schaffartzik ym. 2009), *C. nubeculosusta* (Schaffartzik ym. 2010 ja 2011), *C. obsoletusta* (van der Meide ym. 2013) sekä *C. sonorensis*:ta (Langner ym. 2009) ja niiden aminohappohomologiaa on tutkittu ristireaktioiden ymmärtämiseksi (Schaffartzik ym. 2010 ja 2011, van der Meide ym. 2013). Allergeenien eristys ja rekombinanttiallergeeniproteiinin tuottaminen on kuvattu lyhyesti kuvassa 4 (katsauksessa Uunila 2013). Tutkitut ja tuotetut allergeenit sekä niiden aminohappohomologiat (mikäli tutkittu) on koottu taulukkoon IV.

Taulukko IV. Tähän asti tuotetut allergeenit, proteiini, tutkimusryhmä ja aminohappohomologia sekä homologiaprosentti. R-allergeeni = tuotettu allergeeniproteiini, Culo1-7 = *C. obsoletus* rekombinanttiproteiini 1-7, Culn1-11 = *C. nubeculosus* rekombinanttiproteiini 1-11, Simv1-4 = *S. vittatum* rekombinanttiproteiinit 1-4, Culs1 = *C. sonoretis* rekombinanttiproteiini 1

r-allergeeni	Proteiini	Lähde	aa-homologia	aa-homologia %
Culo1	maltaasi	van der Meide	Culs1	78
Culo2	hyaluronidaasi	ym. 2013	Culn2	75
Culo3	antigeeni 5:n kaltainen proteiini		Culn1	70
Culo4	trypsiini		Culn11	51
Culo5	tuntematon sylkiprot		Culn7	41
Culo6	D7-liittyvä sylkiprot		Culn9	40
Culo7	eristetty sylkiprot		Culn4	33
Culn1	antigeeni 5-kaltainen proteiini	Schaffartzik ym. 2010		
Culn2	hyaluronidaasi	Schaffartzik		
Culn3	oletettu kysteiini endopeptidaasi	ym. 2011		
Culn4	eristetty sylkiproteiini			
Culn5	eristetty sylkiproteiini			
Culn6	eristetty sylkiproteiini			
Culn7	tuntematon sylkiproteiini			
Culn8	maltaasi			
Culn9	D7liittyvä sylkiproteiini			
Culn10	eristetty sylkiproteiini			
Culn11	trypsiini			
Simv1	antigeeni 5-kaltainen proteiini	Schaffartzik ym. 2009 ja 2010		
Simv2	kunitz proteaasin inhibiittori			
Simv3	a-amylaasi			
Simv4	a-amylaasi			
Culs1	maltaasi	Langner ym. 2009		



Kuva 4. Hyönteisen allergeeniproteiini tunnistuksesta rekombinanttiproteiinin tuotantoon. mRNA = lähetti-RNA, virusvektori = solua tai bakteeria infektoiva virus, PCR = polymerase chain reaction, plasmidi = solun sisällä oleva sirkulaarinen geeni

Peeters ym. (2013) tutkivat spesifisen IgE:n määrää kesäihottumahevosilla ja kontrollihevosilla tuotettuja allergeeneja vastaan. Allergeeneina käytettiin *C. obsoletus* -lajin kokonaisuutetta eli -ekstraktia (ObsWBE), *C. nubeculosus* -lajin rintaonteloekstraktia (NubTH) sekä rekombinanttiproteiineja Culo1, Culo2, Culn1, Culn4 sekä Culn7 (Peeters ym. 2013). Merkittävimmät erot kesäihottumasta kärsivien ja oireettomien hevosten spesifisten IgE-määrien osalta saatiin ObsWBE:llä (ylimittausarvojen olevat kesäihottumahevoset vs kontrolli: 34 % vs 7 %), Culo1 (45 % vs 9 %), Culo2 (40 % vs 8 %) sekä parhaana pidetty Culn4 (44 % vs 9 %) (Peeters ym. 2013). Menetelmän aallonpituutena käytettiin 405 nm (Peeters ym 2013). Parhaana paneelina pidettiin allergeeneja ObsWBE, Culn4, Culo1 ja Culo2, joilla tutkittaessa menetelmän spesifisyys on 97 %, mutta sensitiivisyys vain 57 % (Peeters ym. 2013). 30 %:lla kliinisesti oireilevilla hevosilla ei ollut merkittävää IgE-tason nousua mihinkään rekombinanttiproteiiniin (Peeters ym. 2013). Peetersin ym. (2013) tutkimuksessa käytettiin Belgian alueelta kerättyjä 343 lämminveristen hevosten etyleenidiamiinitetraetikkahappo(EDTA)-plasmaa. Tulokset ovat kerätty taulukkoon V.

Taulukko V, R-proteiinipaneelin nimi, sisällytetyt rekombinanttiproteiinit, testien spesifisyys ja sensitiivisyys, tutkimusryhmä ja käytetty aallonpituus ELISA-menetelmässä

Paneeli	r-proteiinit	spesifisyys %	sensitiivisyys %	tutkimusryhmä	aallonpituus (nm)
<b>Combi1</b>	Culo3, Culo5, Culo7	89	89	van der Meide ym. (2014)	450
<b>Combi2</b>	Culo1, Culo2, Culo5, Culo7	86	86	van der Meide ym. (2014)	450
<b>Peeters-paneeli</b>	ObsWBE, Culo1, Culo2, Culn4	97	57	Peeters ym. (2013)	405

Van der Meide ym. (2014) tutkivat samalla menetelmällä (käyttäen aallonpituutta 450 nm) osaksi samoja allergeeneja ja lisäksi uusia rekombinanttiproteiineja. Tutkimukseen sisällytettiin rekombinanttiproteiinit Culo1 (yli mittausrajojen olevat kesäihottumasta kärsivien hevosten vs oireettimat kontrollihevosten spesifisen IgE:n määrä: 76 % vs 24 %), Culo2 (83 % vs 16 %), Culo3 (85 % vs 15 %), Culo4 (78 % vs 21 %), Culo5 (82 % vs 18 %), Culo5 (77 % vs 23 %) ja Culo7 (80 % vs 20 %) sekä *C. obsoletus* -lajin kokonaisekstraktia (86 % vs 14 %) (van der Meide ym. 2014). Paneeleja valittiin kaksi: Combi1 (Culo3, Culo5 ja Culo7) ja Combi2 (Culo1, Culo2, Culo5 ja Culo7). Combi1 tuotti menetelmän, joka on sensitiivisyydeltään ja spesifisyydeltään 89 % ja Combi2 86 %, jotka ovat korkeammat sensitiivisyydet ja spesifisyydet kuin yksikään rekombinanttiproteiini yksinään tai ObsWBE (sensitiivisyys ja spesifisyys 86 %) (van der Meide ym. 2014). Combi1:lle määritettiin IgE-tittereistä log<sub>2</sub>-kuvaaja ja raja-arvot mahdolliselle kesäihottumadiagnoosille (van der Meide ym. 2014). Mikäli IgE:n log<sub>2</sub>-titteri on yli 5,0, 90-100 % mahdollisuudella hevosella on kesäihottuma, titterin ollessa alle 1,8; 80-90% mahdollisuudella hevonen ei kärsi kesäihottumasta (van der Meide ym. 2014). Raja-arvoksi määritettiin 3,0 titteri, jolloin hevosella on yhtä suuri mahdollisuus kesäihottumaan tai terveeseen statukseen (van der Meide ym. 2014). Van der Meide ym. (2014) käyttivät alankomaalaisten hevosten EDTA-plasmaa. Tulokset ovat kerätty taulukkoon V.

Van der Meiden ym. (2014) ja Peeters ym. (2013) tutkimustulokset yhteisten rekombinanttiproteiinien osalta ovat jossain määrin ristiriitaisia. Tutkimuksessa mukana olleet hevoset ovat maantieteellisesti läheltä toisiaan (van der Meiden ym. 2014 ja Peeters ym. 2013). Menetelmässä käytetyllä aallonpituudella 405 nm (Peeters ym. 2013) ja 450 nm (van der Meide ym. 2014) voi olla merkitystä tuloksiin ja tutkimustulokset eivät ole täysin verrattavissa toisiinsa. Ristireagointia antigeenien välillä on raportoitu aiemmin paitsi *Culicoides* -lajien, myös muiden hyttyslajien osalta (Schaffartzik ym. 2010 ja 2011, van der Meide ym. 2013).

Rekombinanttiallergenillä päällystetty ELISA-menetelmä hevosen spesifisen IgE:n mittaamiseen van der Meide ym. (2014) osoittaman paneelin mukaisilla rekombinanttiproteiineilla näyttäisi olevan tähän astisista diagnostisista menetelmistä lupaavin.

## 2.2 MUIDEN LAJIEN TYYPIN I YLIHERKKYYTEEN LIITTYVÄT SAIRAUDET

Luvussa verrataan hevosen kesäihottumaa muiden lajien kontaktiylherkkyyksiin tai allergioihin, esimerkiksi ihmisen tai koiran atooppiseen ihottumaan eli dermatiittiin, koiran ruoka-aineyliherkkyyteen ja kontaktiallergiaan. Kontaktiylherkkyydellä, atooppisella dermatiitilla ja ruoka-aineyliherkkyyksillä on sama immunologinen luonne.

### 2.2.1 Koiran atooppinen dermatiitti

2000-luvulla koirien ihosairaudet ovat olleet ahkeran tutkimuksen alla, erityisesti kutiava koira on koettu omistajien huolenaiheeksi (kirjassa Foster ym. 2013). Atooppinen dermatiitti (atopia) on myös koirilla tyypin I yliherkkyyttä, kuten hevosten kesäihottuma (kirjassa Tizard 2013). Atooppisen dermatiitin aiheuttajia voivat olla ympäristötekijät, ruoka sekä hengitetyt allergeenit (kirjassa Tizard 2013). Tyyppirotuihin kuuluvat länsiylämaanvalkoinenterrieri, labradorinnoutaja, saksanpaimenkoira, kultainen noutaja, boxerit sekä bulldogit (Favrot ym. 2010). Patogeneesi on vielä toistaiseksi tuntematon (kirjassa Tizard 2013). Seerumin kokonais-IgE-määrä korreloi



harvoin suoraan sairauteen, kuten ei myöskään vaurioituneen ihon IgE-määrä (kirjassa Tizard 2013).  $T_H2$ -soluja on havaittu leesioituneilla ihokohdilla enemmän kuin terveillä verrokeilla ja ihossa on selkeästi enemmän sytokiineja IL-4, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  ja IL-2 sekä vähemmän TGF- $\beta$ a kuin terveillä (kirjassa Tizard 2013). Tarkemmin sytokiineja tarkastellaan luvussa 2.3.4 Hevosen ja koiran sytokiiniprofiilit kutinassa.

Koiran atooppisen dermatiitin diagnostiikka on perustunut ns. Favrotin diagnoosilistaan (Favrot ym. 2010), joka on yleisesti hyväksytty The International Task Force on Canine Atopic Dermatitis (ITFCAD) -kokouksessa vuonna 2010 (Olivry 2010). Favrotin listaan kuuluu kahdeksan kohtaa, jotka ovat seuraavat:

- 1) Yli 3 vuoden ikä
- 2) Sisäkoira
- 3) Kortisoniresponsitiivinen kutina
- 4) Ennen leesioiden ilmestymistä kutinaa
- 5) Etujalkojen kutina
- 6) Korvakäytävien kutina
- 7) Korvalehtien kutina
- 8) Dorsolumbaarialueen eli lanneselän kutiamattomuus

Näistä kahdeksasta (8) viiden (5) kohdan vastatessa potilaan tilaa, atooppisen dermatiitin diagnoosin sensitiivisyys on 80-85 % ja spesifisyys 79-85 % (Favrot ym. 2010). Kuuden kohdan täyttyminen puolestaan nostaa spesifisyyden yli 85 %:iin (Favrot ym. 2010). Dorsolumbaarialueen kutiaminen puolestaan ei tue atooppisen dermatiitin diagnoosia, samoin todella nuorella tai vanhalla iällä puhjennut kutina on ennemminkin ruoka-aineallergiaa kuin atooppista dermatiittia (Favrot ym. 2010). ITFCAD huomautti, että listan mukaan diagnosoiduista koirista silti joka viides koira saa väärän positiivisen diagnoosin (Olivry 2010). Favrotin listan lisäksi ITFCAD:n suosituksissa on mm. ektoparasiittien ja ihoinfektioiden poissulkeminen, mikä parantaa Favrotin listan mukaan tehdyn diagnoosin sensitiivisyyttä (Olivry 2010).

Koiran atooppisella dermatiitilla uskotaan olevan geneettinen alttius. Kuuluminen riskirotuihin altistaa atooppiselle dermatiitille ja eri riskiroduilla on atooppisen dermatiitin erilaisia, rodulle tyypillisiä ilmenemismuotoja eli fenotyyppejä. Atooppisen dermatiitin puhkeamiselle uskotaan olevan useita altistavia geenejä. Sukupuolella tai värillä ei ole vaikutusta atooppisen dermatiitin syntyyn koirilla. (kirjassa Tizard 2013)

### 2.2.2 Ihmisen atooppinen dermatiitti

Ihmisen atooppisesta dermatiitista on paljon tutkimuksia, 2000-luvun alusta joka vuosi yli 500 julkaistua tutkimusta nousujohteisesti, 2014 ja 2015 vuosina melkein tuhat julkaistua tutkimusta (PubMed, hakusanat atopic dermatitis human). Ihmisen atooppinen dermatiitti on myös tyypin I yliherkkyyssreaktiota ympäristön allergeeneille, kuten pölylle, inhaloitaville allergeeneille tai ruoka-aineille (kirjassa Leung ja Hon 2011). Suurin osa (yli 90 %) ihmisistä saavat oireita alle viisi vuotiaana (kirjassa Leung ja Hon 2011). Toisin kuin eläimillä, naiset sairastuvat atooppiseen dermatiittiin miehiä useammin (kirjassa Leung ja Hon 2011). Suurin osa (70-80 %) yliherkkyyden omaavista on altistunut ulkoiselle allergeenille (ulkosyntyinen atooppinen dermatiitti) ja 20-30 % sairastuneista kärsivät sisäsyntyisesti IgE:n liikatuotannosta (sisäsyntyinen atooppinen dermatiitti) ja molemmissa tapauksissa nähtävissä on eosinofiliaa (kirjassa Leung ja Hon 2011). Sairastuneet kärsivät monesti huonosta elämänlaadusta mm. unenpuutteen ja stressin takia sekä jatkuva kutina koetaan erittäin raskaaksi (kirjassa Leung ja Hon 2011).

Ihmisen atopia on osittain perinnöllistä: yhden vanhemman kärsiessä atopiasta, jälkeläsen sairastuu 30-50 %:n todennäköisyydellä, kun molempien vanhempien sairastaessa todennäköisyys kohoaa 50-80 %:iin (kirjassa Leung ja Hon 2011).

Ulkosyntyiseen atopiaan on yhdistetty mutaatio filaggrin-proteiinia (FLG) koodaavassa geenissä, joka saa aikaan proteiinin toimimattomuuden ja ihon läpäisevyys proteiineille lisääntyy (kirjassa Leung ja Hon 2011). FLG on ihon suojaproteiini, jonka tehtävänä on ylläpitää ihon rakennetta keratiinisäikeiden kanssa (kirjassa Leung ja Hon 2011). FLG:n metaboliasta on tehty koirilla yksi pilottitutkimus, jossa mitattiin FLG:n metaboliassa mukana olevia neljää entsyymiä neljällä terveellä ja neljällä atooppisella koiralla (Faton ym. 2017). Entsyymien määrä oli korkeampi ulkoisen allergeeniärsytyksen jälkeen atooppisilla koirilla verrattuna terveisiin kontrollikoiriin (Faton ym. 2017). Hevosilla vastaavaa tutkimusta ei ole tehty.

Kuten hevosen kesäihottumassa ja koiran atooppisessa ihottumassa, ihmistenkin atooppisessa ihottumassa elimistön T-auttajasolujakauma kääntyy  $T_H2$ -soluvasteen puolelle vähentäen samalla  $T_H1$ - ja  $T_{reg}$ -solupopulaatiota (kirjassa Leung ja Hon 2011).  $T_H2$ -solut tuottavat sytokiineja IL-4,-5, -6, -10 ja -13 ulkoisen allergeenin ollessa paikalla,

mutta sisäsyntyisessä atopiassa IL-4, -5 ja -13:n ekspressio on matala ja INF- $\gamma$  puolestaan korkea (kirjassa Leung ja Hon 2011). Kroonisessa taudissa puolestaan dominoivat interleukiinit ovat IL-5 ja -12 sekä eosinofiilit (kirjassa Leung ja Hon 2011). Dendriittisolujen ja T<sub>H</sub>1-solujen tuottama IL-12 aiheuttaa T-auttajasolujen erilaistumisen T<sub>H</sub>1-soluiksi. Atooppista dermatiittia sairastavilla ihmisillä ihomuutokset ja kutinan voimakkuus korreloivat vahvasti IL-31:n määrän kanssa (Raap ym. 2008), kuten koirillakin (Potenzieri & Undem 2012). Ihmisen atooppisen dermatiitin sytokiiniprofiilit akuutissa ja kroonisessa taudissa on koottu taulukkoon VI.

Ihon fysikaalisen suojan pettäessä, opportunistit bakteeri-infektiot ovat todennäköisiä (kirjassa Leung ja Hon 2011). Erityisesti ihmisillä tavataan sekundäärisiä *S. aureus* ja *Malassezia* -infektioita (kirjassa Leung ja Hon 2011). Myös koiran ja hevosen ihon rikkoutuessa opportunistit patogeenit pääsevät aiheuttamaan ihoinfektioita.

Taulukko VI. Ihmisen akuutin ulkosyntyisen ja sisäsyntyisen sekä kroonisen atooppisen dermatiitin sytokiinien määrä. Tuottava T-solupopulaatio suluissa. DC = dendriitti solu.

Sytokiini (T-solupopulaatio)	Akuutti		Krooninen
	ulkosyntyinen	sisäsyntyinen	
IL-4 (T <sub>H</sub> 2)	korkea	matala	-
IL-5 (T <sub>H</sub> 2)	korkea	matala	korkea
IL-6 (T <sub>H</sub> 2)	korkea	-	-
IL-10 (T <sub>H</sub> 2)	korkea	-	-
IL-12 (DC, T <sub>H</sub> 1)	-	-	korkea
IL-13 (T <sub>H</sub> 2)	korkea	matala	-
INF- $\gamma$ (T <sub>H</sub> 1)	-	korkea	-

## 2.3 KUTINA

Niin hevosten kesäihottumassa sekä ihmisten ja koirien atopiassa kutina on todettu elämänlaatua huomattavasti huonontavaksi tekijäksi ja eläinten omistajien huolenaiheeksi. Kutinan patogeneesiä ja siihen liittyviä sytokiineja on tutkittu 2010-luvulla ja uutta tietoa syntyy koko ajan.

### 2.3.1 Kutinan patogeneesi

Koirilla ja hevosilla kutina-aistimuksen kulkua ei ole tutkittu muutoin kuin kliinisin kokein, mutta ihmisillä kutina-aistimuksen kulku on esitetty. Ihmisillä kutinan tunne lähtee perifeerisestä sensorisesta hermosta (neuronista) kemiallisen tai mekaanisen ärsytyksen jälkeen selkäytimen dorsaaliseen (eli selän puoleiseen) sarveen (DRG = dorsal root ganglia), josta signaali kulkee hermoratoja pitkin aivoihin spinotalamiseen rataan ja lopulta päättyy laminaariseen nukleukseen, joka sijaitsee talamuksessa (katsauksessa Tarikci ym. 2015). Kutinan laukaisee kemialliset, tulehdukselliset ja verisuonia laajentavat välittäjäaineet, kuten histamiini, sytokiinit, prostaglandiini, proteaasit ja substanssi P, joita käsittelemme myöhemmin (katsauksessa Tarikci ym. 2015). Sensoriset, perifeeriset hermopäätteet ihossa aistivat kemiallisen (myelinisoimattomat C-hermosäikeet) tai mekaanisen (kevyesti myelinisoituneet A $\alpha$ -hermosäikeet) ärsytyksen, joka on tuhoisa soluille (Potenzieri & Undem 2012). Muita kroonisia syitä kutina-aistimuksen tuntemiseen voivat olla esimerkiksi aineenvaihdunnallinen syy (krooninen munuaisten vajaatoiminta, maksan sairaudet), infektiot, hematologinen syy (raudanpuutos, polysytemia vera eli punasolujen runsaus), endokriininen sairaus (kilpirauhassairaudet, diabetes mellitus eli sokeritauti) tai paraneoplastinen eli kasvaimellinen syy (lymfooma, elinkasvaimet) (katsauksessa Tarikci ym. 2015).

C-hermosäie ekspressoii kalvo- eli membraanireseptoria nimeltään *Transient Receptor Potential Vanilloid 1* (TRPV1), jonka substraattina toimii mm. chilipavussa esiintyvä kapsaisiini (Potenzieri & Undem 2012 ja Imamachi ym. 2009). TRPV1-reseptori voi aktivoitua myös hermosolun depolarisoituessa muiden reittien takia, yli 43 asteen lämpötilassa, matalassa pH:ssa (<5,9) ja muista kemiallisista ärsykkeistä kuin kapsaisiinista (Nilius ym. 2007). TRPV1-reseptorin toiminta on kutinassa monimuotoinen

ja se aktivoituu monia eri reittejä, joita tarkastelemme seuraavassa kappaleessa (Potenzieri & Undem 2012). TRPV1-kanavan aktivoituminen aiheuttaa neuronin intrasellulaarisen kalsiumpitoisuuden ( $\text{Ca}^{2+}$ ) nousua avaamalla  $\text{Ca}^{2+}$ -sisäänvirtauskanavat reseptorissa (Nilius ym. 2007), mikä aiheuttaa hermosolun depolarisaation ja hermosignaalin. Kationikanavan kautta päästettävän kalsium-natrium-suhde on noin 10 kapsaiiniaktivaatiolla, kun taas lämpöaktivaatiolla suhde on 4 (Nilius ym. 2007). Kalsium-natrium -suhde on suoraan verrannollinen kutinan voimakkuuteen (Nilius ym. 2007).

### 2.3.2 Kutinan kemiallisesti laukaisevat sytokiinit

Kemiallisesti kutinaa aiheuttaviin sytokiineihin lukeutuvat histamiini, serotoniini (5-HT), asetyylikoliini, substanssi P, eri leukotrieenit ja bradykiniinit, proteaasit, IL-31, lysofosfotidiinihappo (LPA) sekä toll-like receptor 7 (TLR7) (Potenzieri & Undem 2012).

Histamiini on voimakkaasti kutinaa aiheuttava tulehdusvälittäjäaine. Intradermaalinen eli ihon sisäinen injektio aiheuttaa kutinan tunnetta lajista riippumatta, muttei kipua (Potenzieri & Undem 2012). Vapautunut histamiini sitoutuu neuronin terminaalisen hermopäätteen G-protein coupled -reseptoriin (GPCR) sekä erillisiin neuronin histamiinireseptoreihin, joita on ainakin neljää eri alapopulaatiota, H1-4 (Potenzieri & Undem 2012). Alapopulaatioiden merkitys on epäselvä, mutta tärkeimpänä histamiinireseptorina pidetään H1-reseptoria (Potenzieri & Undem 2012). Histamiinin sitoutuessa H1-reseptoriin, solun sisäinen aktivaatio tapahtuu G-proteiinin ja fosfolipaasi C:n kautta, mikä aiheuttaa solun sisäisen kalsiumpitoisuuden nousun ja neuronin depolarisoitumisen (Potenzieri & Undem 2012). Depolarisoituminen aiheuttaa sekundäärisen H1-reseptorien ja TRPV1-reseptorien aktivaation ja neuronin intrasellulaarisen kalsiumpitoisuuden nousua edelleen (Imamachi ym. 2009). Tutkimusten mukaan tässä tilanteessa TRPV1-solujen blokkaminen on lopettanut kutinan tunteen, kun taas yksistään TRPV1-solujen aktivaatio ei ole aiheuttanut samoja kutinaoireita kuten histamiini (Imamachi ym. 2009).

Serotoniini ja asetyylikoliini ovat histamiinia heikompia kutinan aiheuttajia ja kemiallisia ärsykeitä (Potenzieri & Undem 2012). Serotoniinireseptorien rooli on epäselvä,

hiirimallilla ja ihmisillä tehdyt tutkimukset ovat ristiriitaisia (Potenzieri & Undem 2012). TRPV1-knock out -hiirillä (hiiret, jotka eivät ilmennä TRPV1-reseptoria) ei havaittu raapimisen vähentymistä subkutaanisella serotoniinin annostelulla, joten serotoniinin indusoima kutina ei aiheudu TRPV1-reseptorin kautta (Imamachi ym. 2009). Atooppisesta dermatiitista kärsivillä ihmisillä on ihossa asetyylikoliinia yli kymmenkertaa suurempi määrä kuin terveillä verrokeilla (Potenzieri & Undem 2012). Asetyylikoliinin lähde on tuntematon, mutta asetyylikoliinia valmistavaa koliiniasetyylitransferaasia tavataan ihon keratinosyyteissä ja endoteelisoluissa (Potenzieri & Undem 2012).

Substanssi P on kutinaa aiheuttava neuropeptidi, joka stimuloi myös histamiinin vapautumista syöttösoluista (Potenzieri & Undem 2012). Substanssi P sitoutuu neuronin NK1-reseptoreihin ja reseptorin antagonisti estää kutinan tunteen (Potenzieri & Undem 2012).

Eri leukotrieenit, bradykiniinit ja proteaasit aiheuttavat kutinaa (Potenzieri & Undem 2012). Sisäsyntyiset eli endogeeniset seriiniproteaasit kuten trypsiini tai tryptaasi aktivoivat neuronin proteaasiaktivoituja reseptoreita (PAR) (Potenzieri & Undem 2012). PAR-reseptorit jakaantuvat alatyyppeihin ja PAR2-reseptorien määrä on suurempi atooppisesta dermatiitista kärsivillä ihmisillä kuin terveillä (Potenzieri & Undem 2012). PAR-reseptorien aktivaatio nostaa neuronin sisäistä kalsiumkonsentraatiota, mikä johtaa neuropeptidien vapautumiseen ja TRPV1-kanavien aktivoitumiseen (Potenzieri & Undem 2012). Myös ulkosyntyiset eli eksogeeniset proteaasit (mm. hyönteisen syljen proteaasit) aktivoittavat PAR-reseptoreita (Potenzieri & Undem 2012). Hiirimallilla trypsiinin aiheuttamaa kutinaa saatiin vähennettyä TRPV1-reseptorien antagonistilla tai TRPV1-knock out hiirillä trypsiini ei aiheuttanut kutinaa (Costa ym. 2008). Trypsiniin aiheuttamaa kutinaa saadaan myös vähennettyä koksibeilla eli selektiivisellä syklo-oksikenaasi-2 (COX-2) -tulehduskipulääkkeellä sekä neurokiniini 1 (NK1) ja 3 (NK3) -reseptorien antagonisteilla, esimerkiksi aprepitantti (Costa ym. 2008).

IL-31 on T<sub>H</sub>2-solujen erittämä sytokiini, joka aiheuttaa kutinaa ainakin hiirillä, ihmisillä ja koirilla (Potenzieri & Undem 2012). Sytokiinia erittävät (ihmisillä) myös syöttösolut, monosyytit, makrofagit, keratinosyytit sekä fibroblastit (katsauksessa Cornelissen ym. 2012). T<sub>H</sub>2-solujen IL-31:n tuotantoa stimuloi erilaiset tulehdukselliset eli inflamatoriset stimulut: UV-säteily, allergeenit, patogeenit ja histamiini; syöttösoluissa tapahtuu

Taulukko VII. IL-31:a tuottavat solut ja solujen aktivaattorit.

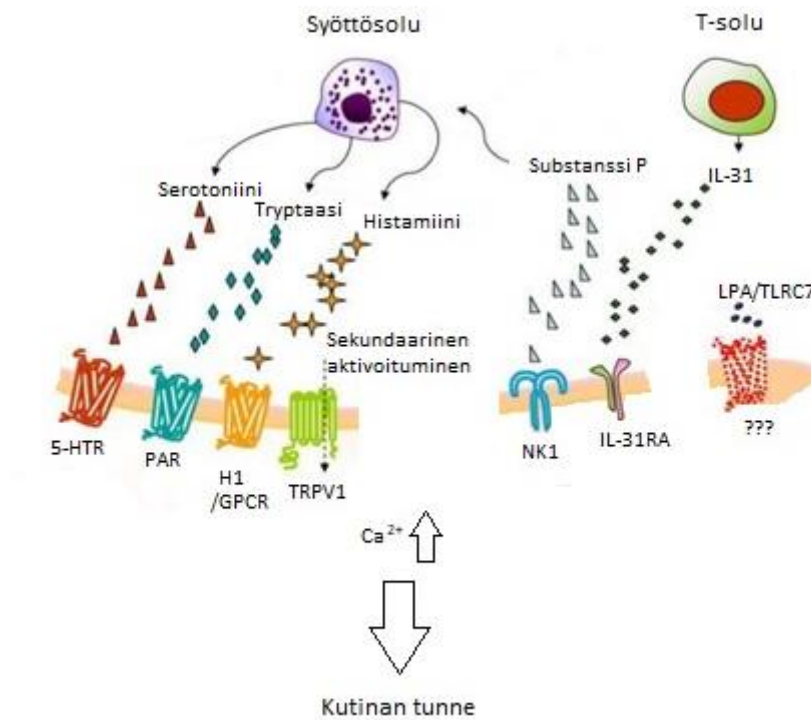
Solu	Aktivaattori
<b>T<sub>H</sub>2</b>	UV-säteily (Spesifiset) allergeenit (Spesifiset) patogeenit Histamiini
<b>Syöttösolut</b>	IgE-välitteinen aktivaatio
<b>Monosyytit, makrofagit</b>	IFN- $\gamma$ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> UVB-säteily
<b>Keratinosyytit, fibroblastit</b>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>

IgE-välitteinen aktivaatio; monosyyttejä ja makrofageja aktivoi mm. IFN- $\gamma$ , vetyperoksidi (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ja UVB-säteily sekä keratinosyyttejä ja fibroblasteja aktivoi lähinnä H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (katsauksessa Cornelissen ym. 2012). IL-31:n tuotosta vastaavat solut ja niiden aktivaattorit on lueteltu taulukossa VII.

Hiirimallilla tehdyt tutkimukset osoittavat, että anti-IL-31 vähentää kutinaa (Potenzieri & Undem 2012). IL-31:n reseptori (IL-31RA) sijaitsee kutinaa signaloivassa neuronissa ja se aktivoi mitogeneeni-proteiinikinaasin ja Janus-kinaasi/*Signal Transducer and Activator of Transcription* -signaalireitin (JAK/STAT) (katsauksessa Pucheu-Haston ym. 2015). IL-31RA:n aktivaatio aiheuttaa neuronissa solukalvon depolarisoitumisen ja kalsiumin sisäänvirtauksen (Tong & Ru-Rong 2013 ja Lee ym. 2012), joka puolestaan aktivoi sekundäärisesti TRPV1-kanavia. Tarkemmin IL-31 -sytokiinista kohdissa 2.3.4 Hevosen ja koiran sytokiiniprofiilit kutinassa ja 2.4.1.1 Oklasitinibi.

Muita kutinaa aiheuttavia kemiallisia välittäjäaineita ovat LPA ja TLR7. LPA nousee mm. kolestaasin aiheuttamana, jolloin aiheutuu ns. metabolinen kutina. TLR7 aiheuttaa kutinaa hiirillä, mutta mekanismi on toistaiseksi tuntematon. (Potenzieri & Undem 2012)

Kutinaa aiheuttavista sytokiineista serotoniinin, tryptaasin, histamiinin, substanssi P:n, IL-31:n, LPA:n ja TLRC7:n lähde ja hermosolun reseptorit on havainnoillistettu kuvassa 5.



Kuva 5. Kutinasytokiiniin lähteet ja reseptorit hermosolussa. 5-HTR = serotoniinireseptori, PAR = proteaasiaktivoituva reseptori, H1 = histamiinireseptori 1, GPCR = G-proteiiniin liittyvä reseptori, TRPV1 = Transient Receptor Potential Vanilloid 1 -reseptori, NK1 = neurokiniini 1-reseptori, IL-31 = interleukiini 31, LPA = lysofosfotidiinihappo, TLRC7 = Toll-like receptor 7, IL-31RA = IL-31:n reseptori. Kuva mukautettu Taricki ym. 2015.

### 2.3.3 Herkistyminen

DRG-neuronien herkistyminen eli sensitisaatio jakautuu kahteen alaluokkaan, perifeeraaliseen ja sentraaliseen sensitisaatioon. Perifeerisessä sensitisaatiossa neuronilla on alentunut kynnystaso aktivisaatiolle ja sensitisaatio on yleistä nosiseptoreissa eli kipureseptoreissa. Atooppista dermatittia sairastavilla ihmisillä on alentunut histamiinikynnystaso verrattuna terveisiin, histamiini indusoi kutinaa pienemmällä pitoisuudella kuin terveillä. Atooppisessa dermatiitissa kutinan voimakas aistiminen voi olla osittain selitettävissä perifeeraalisella sensitisaatiolla. Sentraalisen sensitisaation syntymekanismi on osittain tuntematon. (Potenzieri & Undem 2012)



#### 2.3.4 Hevosien ja koirien sytokiini-profiilit kutinassa

Koirien atooppisissa dermatiitissa sekä hevosen kesäihottuman akuutissa vaiheessa sytokiini-profiili painottuu  $T_H2$ -solupuolelle, kun taas kroonisessa vaiheessa olevissa leesioissa on ajateltu  $T_H1$ -solujen olevan vallitseva alapopulaatio (Meulenbroeks ym. 2013 ja katsauksessa Pucheu-Haston ym. 2015). Sekä koirien atooppisissa dermatiitissa että hevosen kesäihottumassa kiertävät T-solut painottuvat selkeästi auttaja-T-solujen puolelle (Heinmann ym. 2011 ja katsauksessa Pucheu-Haston ym. 2015).

Koska T-solupopulaatio painottuu  $T_H2$ -solupopulaation puolelle, sytokiini-profiili on sekä kesäihottumassa että atooppisissa dermatiitissa samankaltainen. Kuitenkin, vain 25 %:lla atooppisista koirista on selkeä, todellinen  $T_H2$ -sytokiini-profiili ja vain 25 %:lla terveillä koirilla selkeä  $T_H1$ -sytokiini-profiili (katsauksessa Pucheu-Haston ym. 2015). Atopiassa tärkeimmät sytokiinit ovat IL-4, tymaalinen stromaalin lymfopoietiini (TSLP) ja IL-31 (katsauksessa Pucheu-Haston ym. 2015), kesäihottumassa sytokiini-profiilia on tutkittu, mutta tutkimustulokset ovat ristiriitaisia (Heinmann ym. 2011 ja Meulenbroeks ym. 2013). Muita sytokiineja koirien atooppisissa dermatiitissa ovat IL-13 ja IL-5 (katsauksessa Pucheu-Haston ym. 2015).

IL-4 määrästä on sekä atooppisilla koirilla että kesäihottumahevosilla ristiriitaisia tutkimustuloksia (Heinmann ym. 2011, Meulenbroeks ym. 2013 ja katsauksessa Pucheu-Haston ym. 2015). Syyksi on epäilty leesioiden eri aktiivisuusvaihetta: akuuteissa leesioissa IL-4-määrät ovat kohonneet verrattuna terveisiin kun taas kroonisissa leesioissa ei havaita eroavaisuuksia (Meulenbroeks ym. 2013).

Atooppisilla koirilla on TSLP-proteiinia ihossa enemmän kuin terveillä verrokeilla (Klukowska-Rötzler ym. 2013), kesäihottumahevosilla TSLP-tasoa ei olla tutkittu. Atooppisilla koirilla sekä vaurioituneilla että terveillä ihoalueilla havaittiin merkittävästi enemmän TSLP-proteiinia kuin terveillä verrokeilla (Klukowska-Rötzler ym. 2013). Atooppisten koirien vaurioalueen ja kliinisesti oireettoman ihoalueen TSLP-määrissä ei havaittu eroja (Klukowska-Rötzler ym. 2013). TSLP-proteiinia tuottavat ihon keratinosyytit ja TSLP kiihdyttää dendriitti- ja syöttösolujen kypsymistä ja aktivaatiota sekä aktivoittaa myös  $T_H2$ -soluja (Klukowska-Rötzler ym. 2013). Koirien herkistettyjä keratinosyyttejä stimuloitaessa pölypunkki-allergeenillä TSLP:n ekspressio kasvoi

(Klukowska-Rötzler ym. 2013). TSLP ei yksistään aiheuta kutinaa, mutta ohjaa soluvastetta kutinasytokiinejä tuottavien T-solujen ( $T_H2$ ) puolelle, lisää IgE:n tuotantoa ja on osallisena allergisen inflamaation synnyssä (Yoo ym. 2005).

Atooppisilla koirilla tavataan IL-31:n mRNA:n yliekspressointia vaurioituneilla ihoalueilla, samoin kuin kirppuallergiasta kärsivillä koirilla tavataan IL-31 määrän nousua (katsauksessa Pucheu-Haston ym. 2015). Seeruminäytteissä 57 %:lla atooppisista koirista oli tilastollisesti merkittävästi noussut IL-31 -taso verrattuna ihon infektioitiloista kärsiviin koiriin tai terveisiin koiriin (Gonzales ym. 2013). Gonzales ym. (2013) totesivat samassa tutkimuksessaan, että suonensisäisesti, ihonalaisesti ja intradermaalisesti annosteltu IL-31 aiheuttaa kutina-aistimuksen koirilla. Kyseistä sytokiinia tai sen ekspressointia ei ole tutkittu kesäihottumahevosilla. IL-31:n reseptori-A:ta (IL-31RA) tavataan sensorisen neuronin ihoalueilla runsaasti verrattuna muihin kudoksiin (Sonkoly ym. 2006), ks. 2.3.2 Kutinan kemiallisesti laukaisevat sytokiinit sekä 2.4.1.1 Oklasitinibi.

Myös  $T_H1$ -sytokiineja ja niiden osuutta atopiaan ja kesäihottumaan on tutkittu. Tärkeimpänä sytokiininä pidetään INF- $\gamma$ :tä, jota tavataan korkeampina pitoisuuksina koiralla leSIONAALISessa ihossa kuin terveellä tai leSIOITUMATTOMASSA ihossa (katsauksessa Pucheu-Haston ym. 2015) ja hevosilla IFN- $\gamma$ :n määrät nousivat sekä terveillä että kesäihottumaa sairastavilla hevosilla hyttyskaudella, muttei havaittu eroja muuten terveiden ja sairaiden välillä (Heinmann ym. 2011 ja Meulenbroeks ym. 2013). Koirilla intradermaalinen anti-IgE -injektio ei nostanut INF- $\gamma$ :n määrää atooppisilla koirilla (katsauksessa Pucheu-Haston ym. 2015), hevosilla vastaavaa tutkimusta ei ole tehty. TNF- $\alpha$  ei aiheuttanut ihmisillä kutinaa intradermaalisella annostelulla (Darsow ym. 1997), mutta se on suuressa roolissa neuropaattisessa kivussa (Storan ym. 2015). TNF- $\alpha$ :n reseptoreita TNRF1 ja TNRF2 esiintyy kuitenkin dorsaalisen juuren ganglioissa, mutta sytokiinia ei ole vielä linkitetty suoranaisesti kutinaan (Storan ym. 2015).

## 2.4 KESÄIHOTTUMAN JA MUIDEN LAJIEN YLIHERKKYYKSIEN HOITOVAIHTOEHDOT

Kesäihottumaan indikoitua lääkevalmistetta ei ole markkinoilla saatavilla. Kutinan hillitsemiseksi on käytetty kortisonia, allergisten reaktioiden hoitoon indikoitu lääkeaine on deksametasoni (Rapidexon vet 2 mg/ml, inj, Eurovet Animal Health B.V.) ja RAO-

oireiden lievittämiseen indikoitu prednisoloni (Equisolon 33 mg/g, pulveri, Vetcare) sekä antihistamiinia (ei hevoselle rekisteröityä valmistetta). Tehokkain hoito on kirjallisuuden mukaan allergeenin eli hyönteisten välttäminen loimittamalla, pitämällä hevosia tallissa kesäisin aamu- ja iltahämärien aikaan sekä erilaisten hyönteismyrkkujen käyttö (kirjassa Foster ym. 2013). Omistajat ova kokeilleet erilaisia yrttivalmisteita niin ulkoisesti kuin suun kautta annosteltavin valmistein, mutta tieteellinen näyttö puuttuu tai on hyvin vailinainen. Erilaisia rasvahappolisiä suositellaan lähinnä ihon mekaanisen suojausmekanismin tukemiseen.

Koiran atooppiseen dermatiittiin löytyy muutamia indikoituja lääkevalmisteita. Uusin markkinoille tullut valmiste on oklasitinibi, vanhempia valmisteita ovat siklosporiini, kortisoni, histamiinin antagonistit sekä siedätyshoidot.

Opinnäytetyössä Marttinen (2013) kysyi suomalaisten hevosten hoitomuotoja ja hoitajien tai omistajien arviointia hoitojen tehokkuudesta (asteikolla 1-4: ei ollenkaan, huonosti, kohtalaisesti ja hyvin). Ulkoisista hoitokeinoista tehokkaimmiksi oli arvioitu suojaloimen käyttö (keskiarvo 3,57), hevosen hygieniasta huolehtiminen (3,08) ja erilaiset suojarasvat, -öljyt ja suihkeet (2,97) sekä ulkoilun rajoittaminen (2,92) (Marttinen 2013). Lääkkeelliset hoidot (kortisoni 2,81; antihistamiini 2,74; seerumihoito 2,12 ja siedätyshoito 1,88) olivat keskimäärin saaneet huonosta kohtalaisen tehokkuusluvun (2,39) (Marttinen 2013). Vaihtoehtoisista hoidoista yrttejä (2,46) ja homeopatiaa (2,36) pidettiin huonosti tai kohtalaisesti tehokkaana (Marttinen 2013). Myös akupunktio nousi avoimissa kommenteissa tehokkaaksi, vaikka puuttui testipaneelistä (Marttinen 2013).

#### 2.4.1 Lääkkeelliset vaihtoehdot

Kutinaa hillitseviä lääkeaineita on vähän ja ne ovat pääasiassa immunosuppressiivisia, joilla on paljon sivuvaikutuksia. Kortisonia on käytetty kutinaa hillitsevänä sekä koirilla että hevosilla, mutta lääkeaineella on todettu lähes poikkeuksetta hankalaksi koettuja sivuvaikutuksia pitkäaikaiskäytössä. Siklosporiinilla on myös sivuvaikutuksia mm. ruuansulatuskanavan ongelmina. Antihistamiinilääkitys on kutinaan yleensä tehoamaton. Uusin markkinoille tullut lääkeaine oklasitinibi on tutkimusten mukaan

paremmin siedetty kuin siklosporiini, mutta vaikutusmekanismi on osittain tuntematon tai siitä on ristiriitaisia mielipiteitä. Tarkemmin lääkeaineita ja niiden toimintaa tarkastellaan seuraavaksi.

#### 2.4.1.1 Oklasitinibi

Uusin markkinoille tullut lääke, oklasitinibimalaatti (vastaa oklasitinibiniä), on atopiasta kärsiville koirille tarkoitettu kutinaa hillitsevä lääke (Apoquel, tabletti, Zoetis).

Koirilla on todettu sytokiinin IL-31:n kutiseva vaikutus annosteltaessa sitä intradermaalisesti, ihonalaisesti ja suonensisäisesti (Gonzales ym. 2013). Hiirillä kutinaa hillitsevä vaikutus on todettu IL-31RA:n antagonistilla (Potenzieri & Undem 2012). IL-31 aktivoittaa JAK/STAT- sekä mitogeeni-proteiinikinaasi-signaalireittejä (katsauksessa Pucheu-Haston ym. 2015).

Oklasitinibin signalointireittiä on tutkittu (ihmisen) eristetyillä JAK-kinaasilla ja tyrosiinikinaasi 2:lla (TYK2) ja 38:lla muulla solun sisäisellä signaalireitillä sekä sen vaikutusta sytokiineihin on tutkittu *in vitro* -ihmisen ja -koiran soluilla (Gonzales ym. 2014). Tutkimus osoittaa korkean selektiivisyyden sekä JAK1- että JAK2-kinaasiin (Gonzales ym. 2014). Oklasitinibin ja JAK1:n vaikutusmekanismi on kuitenkin vielä epäselvä (Gonzales ym. 2014). Vaikka eristetyt entsyymit (JAK1, JAK2, JAK3 ja TYK2) olivat ihmissoluista eristettyjä entsyymejä, niiden aminohappohomologia koiran kanssa on suuri (98, 98, 100 ja 90 %) ja ne ovat vertailukelpoisia keskenään (Gonzales ym. 2014). Oklasitinibillä ei ollut merkittävää selektiivisyyttä mitogeeni-proteiinikinaasiin (Gonzales ym. 2014), joka on toinen IL-31:n vaikutusreitti (katsauksessa Pucheu-Haston ym. 2015).

STAT-signaalireittien aktivoitumista tutkittiin eri sytokiineilla oklasitinibin ja lumelääkkeen kanssa ihmisten tai koirien *in vitro* -soluilla (Gonzales ym. 2014). Soluja inkuboitiin ensin oklasitinibi- tai lumelääkeliuoksessa, solujen pesujen jälkeen lisättiin verestä eristetty sytokiini, joka jälkeen STAT-määrät mitattiin (Gonzales ym. 2014). Oklasitinibini vähensi merkittävästi IL-2:n ja IL-6:n (tulehdukselliset sytokiinit), IL-4:n ja IL-13:n (allergiset sytokiinit) ja IL-31:n (kutinasytokiini) aiheuttamien STAT-signaalimolekyylien määrää (Gonzales ym. 2014), mutta käytetyt menetelmät ja solulinjat eroavat toisistaan huomattavasti. Käytetyistä sytokiineista ja soluista IL-2 ja IL-

31 olivat koiran soluja ja koiran verestä eristettyjä sytokiinejä (Gonzales ym. 2014). Kaikki tutkitut sytokiinit voivat sitoutua JAK-pintaproteiiniin (Gonzales ym. 2014). Oklasitinibin sytokiiniin vähentämiseen vaikuttavaan mekanismiin ei tutkimuksessa otettu kantaa tai selvitetty.

Sytokiinin IL-31:n indusoimaa kutinaa (annostelu suonensisäisesti) voitiin hillitä kortisonilla (deksametasoni 0,2 mg/kg lihaksen sisäisesti ja prednisoloni 0,5 mg/kg suun kautta) sekä oklasitinibilla (0,4 mg/kg suun kautta), kun taas lumelääkeryhmän kutina ei vähentynyt (Gonzales ym. 2016). Kutina väheni oklasitinibilla ja deksametasonilla huomattavasti tunnin aikana lääkkeen annosta, kun taas prednisolonilla vaikutusaika oli huomattavasti pitempi, 10 tuntia (Gonzales ym. 2016).

Fukuyaman ym. (2017) hiiritutkimuksessa tutkittiin oklasitinibin vaikutusta tolueeni-2,4-diisosyanaattilla (TDI) herkistettyihin yksilöihin. 10 viikon altistusjakson jälkeen hiiret jaettiin lumelääkeryhmään ja oklasitinibi-hoitoryhmään ja jatkettiin altistusta (Fukuyama ym. 2017). Hiiriä tarkkailtiin hoidon ja altistuksen aikana (Fukuyama ym. 2017). Hiiristä määritettiin sytokiiniprofiili altistuksen alueelta (TSLP, IL-31 ja TNF- $\alpha$ ) ja kutinan sensorisen neuronien gangliat kerättiin servikaali- ja kraniaalisen rintakehän alueelta (Fukuyama ym. 2017). Sensoristen neuronien intrasellulaarisen kalsiumin määrää mitattiin herkistettäessä soluja hiiren rekombinanttiproteiineilla TSLP, IL-31, TNF- $\alpha$  ja kapsaisiinilla sekä värjättiin anti-TNF- $\alpha$ -vasta-aineella TNF- $\alpha$ + (TNF- $\alpha$ :n sitoneiden) dendriittisolujen määrittämistä varten (Fukuyama ym. 2017).

Oklasitinibiryhmän hiirillä havaittiin hoidon aikana (7 vrk) kutinan vähentymistä, mutta hoidon lopettamisen jälkeen kutina palasi voimakkaampana ja 8 päivää hoidon lopettamisen jälkeen kutina oli palautunut verrokkiryhmän tasolle (Fukuyama ym. 2017). Oklasitinibihoidon saaneilla hiirillä oli merkittävästi pienempinä pitoisuuksina TSLP:tä, IL-31:tä ja TNF- $\alpha$ :a hoidon aikana kuin verrokkiryhmällä (Fukuyama ym. 2017). Hoidon lopettamisen jälkeen (viimeisestä oklasitinibin annosta > 24 h) IL-31 määrissä ei havaittu nousuja kun taas TSLP ja TNF- $\alpha$  nousivat voimakkaasti verrattuna verrokkiryhmään (Fukuyama ym. 2017). Neuronien hermoimpulsseja (eli intrasellulaarisen kalsiumin nousuja) oli oklasitinibiiniryhmällä vähemmän stimuloitaessa IL-31:lla, TNF- $\alpha$ :lla ja kapsaisiinilla kuin verrokkiryhmällä, mutta eroa ei huomattu stimuloitaessa TSLP:llä (Fukuyama ym. 2017). TNF- $\alpha$ :a ilmentäviä

dendriittisoluja havaittiin hoitoryhmässä huomattavasti vähemmän kuin verrokkiryhmillä hoidon aikana ja hoidon päättymisen jälkeen TNF $\alpha$ + dendriittisolumäärä nousi voimakkaasti oklasitinibiinihoitoryhmällä (Fukuyama ym. 2017).

Tutkimuksessa ei havaittu IL-31 -määrän nousua hoidon lopettamisen jälkeen, vaikka kutina voimistui huomattavasti (Fukuyama ym. 2017), mikä puoltaa oklasitinibin kutinaa hillitsevää vaikutusta myös muiden kuin pelkästään IL-31 – JAK1 – STAT -signaalireittiä pitkin. Sytokiinit TNF- $\alpha$  ja TSLP puolestaan nousivat voimakkaasti heti hoidon lopettamisen jälkeen (Fukuyama ym. 2017). TNF- $\alpha$ :a ei ole vielä yhdistetty kutinaan (Darsow ym. 1997 ja Storan ym. 2015), mutta TSLP-proteiinia tavataan atooppisilla koirilla enemmän ihossa kuin terveillä verrokeilla (Klukowska-Rötzler ym. 2013). Aikaisemmissa tutkimustuloksissa ei ole havaittu TSPL:n toimivan kutinaa indusoivana proteiinina (Darsow ym. 1997). TNF- $\alpha$  ei vaikuta JAK1-kinaasin kautta, joten on mahdollista, että oklasitinibi vähentää kaiken kaikkiaan kalsium-välitteisesti signaloivien kutinasytokiinien aiheuttamaa kutinaa (Fukuyama ym. 2017).

Fukuyaman ym. (2017) tutkimustulokset osoittavat, että oklasitinibi vähentää voimakkaasti kalsium-välitteistä signalointia kutinaa aiheuttavissa hermosoluissa sekä TNF $\alpha$ + dendriittisolujen määrää hermosolugangliassa. Tutkimus osoittaa myös, että IL-31 ei pelkästään aiheuta kutina-aistimusta, koska oklasitinibihoidon lopettamisen jälkeen kutina lisääntyi voimakkaasti hiirillä, mutta IL-31-määrät eivät (Fukuyama ym. 2017). TRPV1-kanava aktivoituu monista eri kutinasytokiineistä ja aiheuttaa kalsiumin sisäänvirtauksen soluun (Nilius ym. 2007), joten oklasitinibi voi vaikuttaa TRPV1-kanavaan sen aktiivisuutta alentavasti (Fukuyama ym. 2017).

Hevosilla kutinamekanismia ei ole tutkittu eikä tutkimustuloksia oklasitinibistakaan ole.

#### 2.4.1.2 Siklosporiini

Koirien ja ihmisten atooppisen dermatiitin oireita voidaan hoitaa siklosporiinilla. Siklosporiini kuuluu ei-steroidisiin lääkeaineisiin, jolla on immunosuppressiivisia vaikutuksia. Siklosporiini A (CsA) estää kalsineuriinin aktivoimista ja siten estää T-solujen aktivoitumista vähentämällä sytokiinien, esim. IL-2 tuotantoa. Siklosporiini toimii

parhaiten ihmisillä sisäsyntyiseen atooppiseen dermatiittiin, koska sisäsyntyisessä dermatiitissä vallitseva sytokiiniprofiili on yleensä  $T_H1$ -painotteinen. (Fujimura ym. 2016)

Koirien atooppiseen dermatiittiin on saatavissa indikoitu siklosporiinivalmiste (Atopica Vet, kapseli, Novartis Animal Health Inc. Basel, Sveitsi). Valmistetta on käytetty myös kissoille ns. off-label -käyttönä. Suositeltu annos on 5 mg/kg (tutkimuksia tehty 2,5-6,5 mg/kg) kerran päivässä. Lääkkeen vaste saavutetaan hitaasti, vasta 30 päivän kuluttua aloituksesta. Siklosporiinilla on haittavaikutuksina mm. oksentelua ja ruuansulatuskanavaoireilua, mutta ne ovat melko harvinaisia. (Atopica - valmisteyhtenveto)

Tutkimusnäyttö hevosilla on puutteellinen ja lääkkevalmisteen hinta asettaa taloudellisia rajoitteita lääkeaineen käytölle (katsauksessa Yu 2015). Lisäksi hevosten kesäihottuma on aktiivisessa vaiheessa  $T_H2$ -solupainotteinen eikä IL-2-sytokiinitasoja ole tutkittu kesäihottumassa, joten jopa teoreettinen näyttö lääkkeen sopivuudesta aktiivisessa vaiheessa olevaan kesäihottumaan on puutteellinen. Lisäksi siklosporiini eliminoiduu maksan kautta, mikä lisää hevosilla riskiä hepatopatiaan (katsauksessa Yu 2015). Ihmisillä havaittuja muita haittavaikutuksia ovat verisuonten supistuminen, verenpaineen nousu ja munuaistoksisuus (munuaisen vajaatoiminnan riski); ripuli; veren rasva-ainepitoisuuden nousu; veren glukoosipitoisuuden nousu (riski metaboliseen syndroomaan); hermosolutoksiini; hirutismi eli pitkäkarvaisuus ja sekundaariset tulehdukset (kirjassa Felipe 2016).

#### 2.4.1.3 Kortisoni

Kortisonia on pitkään käytetty hillitsemään steriileja tulehdusreaktioita ja vähentämällä siten sytokiinituotantoa ja kutinaa. Kortisonia käytetään ihmisillä, koirilla ja hevosillakin erilaisten immunisysteemin ylireagoitien hillitsemiseen kuten anafylaktiseen shokkiin. Kortisoni vähentää nukleaaritekijä- $\kappa B$ :tä, joka suoraan tai epäsuorasti vähentää sytokiinituotantoa ja muita tulehdustekijöitä. Pitkäaikaista kortisonin käyttöä hevosille ei suositella sen vakavien haittavaikutusten vuoksi, joita ovat esim. kortisoni-indusoitu

kaviokuume, hepatopatia eli maksasairaus ja iatrogeeninen hyperadrenokortisismi eli aiheutettu lisämunuaisen kuorikerroksen liikatoiminta. (katsauksessa Yu 2015)

Prednisolonia käytetään annoksella 0,5-1,5 mg/kg kerran päivässä viikosta kahteen viikkoon, sen jälkeen annosta lasketaan ylläpitoannokselle 0,2-0,5 mg/kg joka toinen päivä 2-5 viikon ajan. Deksametasonia aloitusannoksella 0,05-0,1 mg/kg ja jatkohoito 0,01-0,02 mg/kg. Hevosten alempien hengitysteiden yliherkkyyssreaktiossa (RAO) on mahdollista käyttää myös inhaloitavia kortisoneja, jotta systeemivaikutuksilta säästytäisiin. Inhaloitavia kortisoneja ei ole tutkittu kesäihottumahevosilla. (katsauksessa Yu 2015)

Kortisonin pitkäaikaiskäyttö ei ole suotavaa sen suurien systeemisten haittavaikutuksien johdosta. Erityisen herkkiä kaviokuumeelle ovat ponirodut sekä raskaat rodut, jotka ovat alttiita myös kesäihottumalle. Suomalaisten kesäihottumahevosten omistajien ja hoitajien kyselytutkimuksessa kortisonin todettiin olevan tehokas apu kesäihottumaan (Marttinen 2013).

#### 2.4.1.4 Antihistamiinit

Histamiiniantagonisteja käytetään ihmisillä vähentämään allergisia reaktioita, esimerkiksi siitepölyn aiheuttamaa nuhaa ja hengenahdistusta (Hore ym. 2005). Atooppisesta dermatiitista kärsivät ihmiset eivät kuitenkaan hyödy antihistamiinien kutinaa lievittävästä vaikutuksesta, koska kutinan synnyttää luultavimmin IL-31 (Raap ym. 2005). IL-31 aiheuttaa kutinaa eri signaalintireittiä kuin histamiini, joten antihistamiinin käyttö atooppisessa dermatiitissa ei helpota kutinaa (Raap ym. 2005).

Antihistamiineista setiretsiiniä (toisen polven H<sub>1</sub>-antagonisti) on tutkittu hevosen kesäihottumassa kutinaa hillitsevänä lääkkeenä (Olsen ym. 2010). Tutkimus on laadukas, kaksoissokkoutettu ja riittävällä otoskoolla tehty. Tuloksissa ei kuitenkaan huomattu tilastollista eroa lumelääkeryhmän ja setiretsiinillä hoidetun ryhmän välillä kliinisessä yleistutkimuksessa (Olsen ym. 2010). Tutkimustulos tukee teoriaa ihmisten atooppisen dermatiitin ja hevosten kesäihottuman immunologisesta yhtäläisyydestä.



Muita hevosille käytettyjä antihistamiineja ovat hydroksysiini, klorfeniramiini, difenhydramiini, pyrilamiini ja dokseptiini, mutta hevosen kesäihottumaan liittyviä tutkimuksia ei ole tehty, lääkeaineiden imeytyminen suun kautta annostellessa on huono ja kliininen vaste hyvin vaihteleva (kirjassa Felipe 2016).

Suomalaisten kesäihottumahevosten omistajien keskuudessa antihistamiinit olivat eniten käytetty lääkeellinen hoitokeino ja se arvioitiin omistajien keskuudessa tehokkaaksi (Marttinen 2013).

#### 2.4.2 Siedätyshoito

Kaupallisissa siedätyshoidoissa hevosen seerumista tutkitaan spesifisen IgE:n tasot *Culicoides spp.* lajeille ja valmistetaan reagoivista allergeeneista liuos, jota injektoidaan ihon alle sarjana (kirjassa Foster ym. 2013). Siedätyshoidosta on ristiriitaisia tutkimustuloksia: toisessa tutkimuksessa noin 63 % hevosista kärsi vähemmän kliinisistä oireista 2 vuoden hoidon jälkeen (Anderson ym. 1996), toisessa tutkimuksessa hoidettavien ja hoidotta olleiden hevosten välillä ei havaittu tilastollista eroa kliinisissä oireissa (Barbet ym. 1990). Tuloksissa suurta vaihtelevuutta on pohdittu allergeenien standartoimattomuudella, joka onkin ollut 2000- ja 2010-luvuilla tutkittavana ja se on saamassa uusia käänteitä (kirjassa Foster ym. 2013). Suomalaisten kesäihottumahevosten omistajien keskuudessa tehdyssä kyselytutkimuksessa ilmeni, että saatavissa oleva siedätyshoito oli tehokkuudeltaan lievä ja sitä oli käyttänyt ainoastaan noin 5 % vastanneista (Marttinen 2013).

Siedätyshoidon tehostamisesta on tehty pilottitutkimuksia vuosina 2015 ja 2016. Islantilainen tutkimusryhmä Jonsdottir ym. (2015 ja 2016a) ovat tutkineet eri adjuvanttien eli apuaineiden käyttöä hevosten kesäihottuman siedätyshoidossa. Adjuvantteina on käytetty ihmisille rekisteröityjä valmisteita IC31®:tä, alumiinin suoloja sekä alumiinia ja monofosforyylilipidi A:ta (MPLA) (Jonsdottir ym. 2015 ja 2016a).

IC31® -adjuvanttia käytetään ihmisten siedätyshoitossa tehostamaan allergeenin siedätyshoidon vaikutusta (Schellack ym. 2006). Se stimuloi immunosysteemiä TLR9/MyD88 -signaalireitin kautta ja kääntää immuunipuollustusta T<sub>H</sub>1-soluvasteen puolelle (Schellack ym. 2006). Tutkimuksessa oli mukana 12 tervettä islanninhevosta,

jotka eivät olleet altistuneet *Culicoides spp.* -lajin hyönteisille (Jonsdottir ym. 2015). Immunisoivat rokotukset annettiin 3 kertaa 4 viikon välein (viikot 0, 5 ja 9) ihonsisäisesti tai leuanalusimusolmukkeeseen ilman tai adjuvantin kanssa (Jonsdottir ym. 2015). Tutkimuksessa todettiin spesifisen IgG-määrien nousua riippumatta injeksiokohdasta tai adjuvantista, mutta alaluokissa IgG1 ja IgG1/3 oli enemmän nousua IC31<sup>®</sup>:tä saaneilla ryhmillä (Jonsdottir ym. 2015). Millään hoitoryhmällä ei havaittu spesifisen IgE:n nousuja (Jonsdottir ym. 2015). Spesifisen IgE:n inhibitiota tutkittiin Sveitsissä olevien kesäihottumahevosten IgE:tä vastaan (Jonsdottir ym. 2015). Imusolmukkeeseen injektoidujen allergeeni-IC31<sup>®</sup> -hoitoryhmän hevosten seerumia kerättiin ennen hoitoa ja hoidon jälkeen (Jonsdottir ym. 2015). Ennen hoitoa ei havaittu spesifisen IgE:n inhibitiota, kun taas hoidon jälkeen inhibitio oli 18,4-54,4 %, riippuen allergeenista (Jonsdottir ym. 2015).

Alumiinin suolat (Alum) ovat klassia adjuvantteja ihmisten siedätyshoidossa (Moingeon 2012). Alumiini kuitenkin kääntää immunivasteen T<sub>H</sub>2-solupuolelle (Moingeon 2012), jota kesäihottumassa pyritään hillitsemään. MPLA-adjuvantti puolestaan sitoutuu TLR4:ään (Qureshi ym. 1982 ja Evans ym. 2003) ja on T<sub>H</sub>1-vasteinen adjuvantti (Puggioni ym. 2005). Jonsdottir ym. (2016a) tutkivat terveillä, herkistymättömillä islanninhevosilla allergeeni-Alum ja allergeeni-Alum/MPLA -siedätyshoidon vastetta. Injektiot annettiin leuanalusimusolmukkeeseen kolme kertaa 4 viikon välein, jonka jälkeen mitattiin IgE, IgG ja IgA -määriä verestä, spesifisen IgE:n inhibitiota sekä perifeeraalisten verisolujen sytokiinituotantoa (Jonsdottir ym. 2016a). Spesifisistä vasta-aineista nousivat IgG ja IgA, mutta IgE ei noussut (Jonsdottir ym. 2016a). Inhibitio spesifistä IgE:tä vastaan oli huomattavasti parempi käytetyillä adjuvanteilla kuin IC31<sup>®</sup>:llä, 1:10 laimennoksella inhibitio Culn3:a, Culn4:ää ja Culn10:tä vastaan oli jopa 90 %, riippumatta MPLA:n käytöstä (Jonsdottir ym. 2016a). Sytokiinien ekspressoinnissa ryhmien välillä oli eroja, MPLA-adjuvantin läsnäolo tuotti enemmän IFN-γ:tä ja IL-10:tä kuin pelkällä Alum-adjuvantilla ja allergeenillä siedätetyt hevoset (Jonsdottir ym. 2016a).

Allergeeneina käytettiin vuoden 2015 tutkimuksessa rekombinanttiproteiineja Culn1, Culn2, Culn5 ja Culn9 ja vuoden 2016 tutkimuksessa käytetyt allergeenit olivat Culn3, Culn4, Culn8 ja Culn10 (Jonsdottir ym. 2015 ja 2016a), joten spesifisen IgE:n inhibitiotulokset eivät ole keskenään täysin vertailukelpoiset ja adjuvanttien tehon

vertailu ei ole täysin yksiselitteistä. Lisäksi vain Culn4 sisältyy Peeters ym. (2013) luomaan allergeenipaneeliin, kun taas Culn1:llä on 70 %:n aminohappohomologisuus sekä Peetersin paneelin (Peeters ym. 2013) että Combi2:n (van der Meide ym. 2014) sisältämän Culo2:n kanssa. Mielenkiintoista olisi luoda Combi1-allergeenit (van der Meide ym. 2014) sisältävä siedätyshoito adjuvantin kanssa sekä tutkia suuremmalla otoksella tämän uudemman siedätyshoidon tehoa jo kesäihottumasta kärsivien hevosten parissa. Mielenkiintoista olisi myös käyttää luonnollista adjuvanttia siedätyshoidossa, esimerkiksi aktiivista D-vitamiinia (Moingeon 2012, katsauksessa Uunila 2013).

Jonsdottir ym. (2016b) tutkivat myös suun kautta annettavaa siedätyshoitoa. Tutkimuksessa kuolaimen sisällytettiin rekombinanttiproteiinia Culn2 ja terveet, herkistymättömät hevoset joko saivat allergeeniä sisältävän kuolaimen tai ”tyhjän” kuolaimen (Jonsdottir ym. 2016b). Seerumista ja syljestä mitattiin IgG, IgE ja IgA sekä määritettiin spesifisen IgE:n inhibitio (Jonsdottir ym. 2016b). Kolme hevosta neljästä, joilla oli allergeeniä sisältävä kuolain, nosti IgG1-tasoa, IgE inhibitio hoidon jälkeen Culo2-allergeeniä vastaan oli 42 %, Culn2 vastaan vain 16 % laimennoksella 1:6 (Jonsdottir ym. 2016b). Pienen otokseen takia tutkimuksen tieteellistä tehoa on puutteellinen ja lisätutkimuksia tarvitaan.

#### 2.4.3 Muut hoitovaihtoehdot

Kesäihottuman tärkein ja toimivin hoito on kutinaa aiheuttavien hyönteisten välttäminen: säännöstelty ulkoilu-aika, ympäristö ja hyttysloimet ja – karkoitteet (kirjassa Foster ym. 2013). Kyselytutkimus, joka tehtiin suomalaisten kesäihottumasta kärsivien hevosten omistajille, oli yhteneväinen mainittujen hoitojen osalta sekä tehokkuudeltaan että käyttömukavuudeltaan (Marttinen 2013).

Monityydyttymättömistä rasvahapoista (omega-3 ja -6) voi olla hyötyä (kirjassa Foster ym. 2013). Rasvahappojen osuus immunologisissa sairauksissa on vielä tuntematon solujen signaalintitasolla, mutta lukuisat tutkimukset osoittavat niiden parantavan ihon mekaanista suojaa (kirjassa Foster ym. 2013).

Autoseerumiterapialla tarkoitetaan hevosen omasta seerumista tehtyä lipidisisältöistä raetta, joka syötetään hevoselle suun kautta (Hallamaa ym. 2014). Suomalainen tutkimus osoittaa, että kesäihottumasta kärsivillä hevosilla on veressä enemmän fosfatidyylikoliinia ja sfingomyeliiniä kuin terveillä verrokeilla, joilla puolestaan oli veressä enemmän fosfatidiinihappoa kuin sairailta hevosilla (Hallamaa ym. 2014). Syöttämällä autoseerumirakeita vähäisistä ja keskivaikeista oireiluista kärsiville hevosille on saatu esille kliinisten oireiden vähentymistä (Hallamaa ym. 2010). Lisätutkimuksia kuitenkin tarvitaan, sillä rakeisiin imeytettävä rasvahappomäärä on homeopaattinen, imeytymistä ei ole kontrolloitu ja kliinisten oireiden tulkinta perustuu omistajien mielipiteisiin eikä esim. systemaattisen paneelin täyttämiseen. Lisäksi mielenkiintoista olisi verrata autoseerumirakeita ja muiden rasvahappojen syöttämistä, saadaanko näille ryhmille tilastollisesti merkittäviä eroja. Suomalaisessa kyselytutkimuksessa seerumihoitoa oli kokeillut 10 % vastaajista ja sen tehokkuus oli arvioitu huonosta kohtalaiseksi (Marttinen 2013).

### **3 POHDINTA**

Tutkielman tavoitteena oli syventyä hevosen kesäihottuman syntymekanismiin, sen molekulaariseen taustaan, verrata sitä muiden lajien tyyppin I yliherkkyystauteihin ja tarkastella nykyisiä hoitokeinoja ja teoreettisia vaihtoehtoja.

Hevosen kesäihottuman syntymekanismi on osittain vielä tuntematon, kuten immunologisissa sairauksissa on yleistä. Viime vuosina allergeenien tunnistaminen ja tuottaminen ovat vieneet tutkimuksia eteenpäin ja luotettavaan verinäytediagnosoimiseen on kehitteillä lupaava menetelmä. Immunologisten sairauksien molekulaarisen mekanismin tunteminen on askel kohti täsmällisempää hoitoa. Hevosten immunologisten sairauksien tutkimukset laahaavat kuitenkin monta vuotta ihmisten ja koirienkin jäljessä.

Uusia hoitomahdollisuuksia kehitetään jatkuvasti allergeenien tunnistuksen ja tuoton myötä ja sairauden ymmärtäminen paranee vuosi vuodelta. Hevosilla yliherkkyyksien hoitoon ei ole vielä tehty suuria, uraa uurtavia tutkimuksia lääkeaineilla. Ihmisille ja

koirille sitäkin enemmän. Niitä voitaisiin käyttää hyväksi tutkimushypoteeseja asettaessa. Kesäihottuman hoito Suomessa perustuu lähinnä vanhoihin hoito-ohjeisiin välttää hyönteisiä ja tieteellisesti todistettamattomiin hoitoihin tai hoitokokeiluihin. Uusia teoreettisia vaihtoehtoja löytyy toisilta lajeilta runsaasti, jotka voitaisiin tuoda hevostutkimusten piiriin.

Hevosen kesäihottuman tieteellisesti todistetut hoitovaihtoehdot ovat vielä vähissä. Kesäihottumahevosia tavataan kaikkialla, missä esiintyy *Culicoides spp.* -lajin hyönteisiä ja tauti koetaan hevosten omistajien keskuudessa hankalaksi ja suureksi huolenaiheeksi. Tieteellisesti todistettu terapiahoito on enemmän kuin tervetullut.

#### 4 KIRJALLISUUSLUETTELO

- Anderron LS, Swinbune JE, Meadows RS, Broström H, Eriksson S, Fikse WF, Frey R, Sundquist M, Tseng CT, Mikko S, Lindgren G.** *The same ELA class II risk factors confer equine insect bite hypersensitivity in two distinct populations.* Immunogenetics 2012, 64: 201.
- Anderson GS, Belton P, Jähren E.** *Immunotherapy trial for horses in British Columbia with Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) hypersensitivity.* J Med Entomol 1996, 33: 458–466.
- Anderson GS, Belton P, Kleider, N.** *The Hypersensitivity of Horses to Culicoides Bites in British Columbia.* Can Vet J 1988, 29:718-723.
- Barbet JL, Bevier D, Greiner EC.** *Specific immunotherapy in the treatment of Culicoides hypersensitive horses: a double-blind study.* Equine Vet J 1990, 22:232–235.
- Brandt EB, Sivaprasad U.** *Th2 Cytokines and Atopic Dermatitis.* J Clin Cell Immunol 2011, 2:110.
- Broström H, Larsson A, Troedsson M.** (1987) *Allergic dermatitis (sweet itch) of Icelandic horses in Sweden: an epidemiological study.* Equine Vet J 1987, 19:229-236.
- Cornelissen C, Lüscher-Firzlaff J, Baron JM, Lüscher B.** *Signaling by IL-31 and functional consequences.* Eur J Cell Biol 2012, 91:552-66. [katsausartikkeli]
- Costa R, Marotta DM, Manjavachi MN, Fernandes ES, Lima-Garcia JF, Paszcuk AF, Quintao NL, Juliano L, Brain SD, Calixto JB.** (2008) *Evidence for the role of neurogenic inflammation components in trypsin-elicited scratching behaviour in mice.* Br J Pharmacol 2008, 154:1094–1103.
- Curik I, Fraser D, Eder C, Achmann R, Swinburne J, Binns M, Crameri R, Brem G, So" Ikner J, Marti E.** *Association between MHCgene region and variation of serum IgE levels against specific mould allergens in the horse.* Genet Select Evol 2003, 35:117–190.
- Darsow U, Scharein E, Bromm B, Ring J.** *Skin testing of the pruritogenic activity of histamine and cytokines (interleukin-2 and tumour necrosis factor-alpha) at the dermal-epidermal junction.* Br J Dermatol 1997, 137(3):415-417.
- Derksen FJ, Robinson NE, Scott JS, Stick JA.** *Aerosolized Micropolyspora faeni antigen as a cause of pulmonary dysfunction in ponies with recurrent airway obstruction (heaves).* Am J Vet Res 1988, 49:933–938.
- Eder C, Curik I, Brem G, Crameri R, Bodo I, Habe F, Lazary S, So" Ikner J, Marti E.** *Influence of environmental and genetic factors on allergen-specific immunoglobulin E levels in sera from Lipizzan horses.* Equine Vet J 2001, 33:714–720.
- EMA.** Apoquel -valmisteyhteenveto.  
[http://www.ema.europa.eu/docs/fi\\_FI/document\\_library/EPAR -  
Product\\_Information/veterinary/002688/WC500152091.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/fi_FI/document_library/EPAR_-_Product_Information/veterinary/002688/WC500152091.pdf), haettu 23.8.2017.
- EMA.** Atopica Vet -valmisteyhteenveto.  
<http://spc.nam.fi/indox/nam/html/nam/vetspc/3/1122343.pdf>, haettu 23.8.2017.
- Eriksson S, Grandinson K, Fikse WF, Lindberg L, Mikko S, Broström H, Frey R, Sundquist M, Lindgren G.** *Genetic analysis of insect bite hypersensitivity (summer eczema) in Icelandic horses.* Animal 2008, 2:360-365.

**Evans JT, Cluff CW, Johnson DA, Lacy MJ, Persing DH, Baldrige JR.** *Enhancement of antigen-specific immunity via the TLR4 ligands MPL adjuvant and Ribi.* Expert Rev Vaccines 2003, 2(2):219–229.

**Fanton N.** *Increased filaggrin-metabolizing enzyme activity in atopic skin: A pilot study using a canine model of atopic dermatitis.* Vet Dermatol 2017. [painossa]

**Favrot C, Steffan J, Seewald W, Picco F.** *A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis.* Vet Dermatol 2010, 21(1):23-31.

**Felippe MJB (toim.).** *Equine Clinical Immunology.* 1. p. John Wiley & Sons Inc., Singapore 2016. [online, haettu 23.8.2017]

**Foster A, Noli P, Wayne R. (toim.)** *Veterinary allergy.* 1. p. Wiley Blackwell, 2013. [online, haettu 23.8.2017]

**Frey R, Bergvall K, Egenvall A.** *Allergen-specific IgE on Icelandic horses with insect bite hypersensitivity and healthy controls, assessed by FcεR1α-based serology.* Vet Immunol Immunopathol 2008, 126:102-109.

**Fujimura M, Nakatsuji Y, Ishimaru H.** *Cyclosporin A Treatment in Intrinsic Canine Atopic Dermatitis (Atopic-like Dermatitis): Open Trial Study.* Pol J Vet Sci 2016, 19(3):567-572.

**Gerber V, Lindberg A, Berney C, Robinson NE.** *Airway mucus in recurrent airway obstruction—short-term response to environmental challenge.* J Vet Intern Med 2004, 18:92–97.

**Gonzales AJ, Fleck TJ, Humphrey WR, Galvan BA, Aleo MM, Mahabir SP, Tena JK, Greenwood KG, McCall RB.** *IL-31-induced pruritus in dogs: a novel experimental model to evaluate anti-pruritic effects of canine therapeutics.* Vet Dermatol 2016, 27(1): 34–e10.

**Gonzales AJ, Humphrey WR, Messamore JE, Fleck TJ, Fici GJ, Shelly JA, Teel JF, Bammert GF, Dunham SA, Fuller TE, McCall RB.** *Interleukin-31: its role in canine pruritus and naturally occurring canine atopic dermatitis.* VetDermatol 2013, 24:48-e12.

**Hallamaa R, Batchu K, Tallberg T.** *Phospholipids in sera of horses with summer eczema: lipid analysis of the autoserum preparation used in therapy.* Equine Vet J 2014, 46(3):322-327.

**Hallamaa R.** *Autoserum preparation in the treatment of equine summer eczema: Findings over 12 years.* Equine Vet Educ 2010, 22(12):610-615.

**Hallamaa R.** *Characteristics of equine summer eczema with emphasis on differences between Finnhorses and Icelandic horses in a 11-year study.* Acta Vet Scand 2009, 51:29.

**Halldórsdóttir S, Larsen HJ.** *An epidemiological study of summer eczema in Icelandic horses in Norway.* Equine Vet J 1991, 23:296-299.

**Halliwell RE, McGorum BC, Irving P, Dixon PM.** *Local and systemic antibody production in horses affected with chronic obstructive pulmonary disease.* Vet Immunol Immunopathol 1993, 38:201–215.

**Hamza E, Steinbach F, Marti E.** *CD4+CD25+ T cells expressing FoxP3 in Icelandic horses affected with insect bite hypersensitivity.* Veterinary Immunol Immunop 2011, 148: 139–144.

**Hamza E, Wagner B, Jungi TW, ym.** *Reduced incidence of insectbite hypersensitivity in Icelandic horses is associated with a downregulation of interleukin-4 by interleukin-10 and transforming growth factor- $\beta$ 1.* Veterinary Immunol Immunop 2008, 122: 65–75.

**Hay FC, Westwood O (toim.)** (2002) *Practical Immunology*. 4. p. Blackwell Science Ltd, 2002 Oxford.

**Heimann M, Janda J, Sigurdardottir OG, Svansson V, Klukowska J, von Tscharner C, Doherr M, Brostrom H, Andersson LS, Einarsson S, Marti E, Torsteinsdottir S.** (2011) *Skin-infiltrating T cells and cytokine expression in Icelandic horses affected with insect bite hypersensitivity: A possible role for regulatory T cells.* Vet Immunol Immunopathol 2011, 140:63-74.

**Hore I, Georgalas C, Scadding G.** *Oral antihistamines for the symptom of nasal obstruction in persistent allergic rhinitis--a systematic review of randomized controlled trials.* Clin Exp Allergy 2005, 35:207-212.

**Imamachi N, Park GH, Lee H, Anderson DJ, Simon MI, Basbaum AI, Han SK.** *TRPV1-expressing primary afferents generate behavioral responses to pruritogens via multiple mechanisms.* Proc Natl Acad Sci U S A 2009, 106:11330–11335.

**Janeway CA Jr, Travers P, Walport M, ym. (toim.)** *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*. 5. p. Garland Science, 2001 New York.

**Jonsdottir S, Svansson V, Stefansdottir SB, Mäntylä E, Marti E, Torsreinsdottir S.** *Oral administration of transgenic barley expressing a Culicoides allergen induces specific antibody response.* Equine Vet J 2016, 0:1-7.

**Jonsdottira S, Hamzab E, Jandab J, Rhynerc C, Meinked A, Marti E, Svanssona V, Torsteinsdottira S.** *Developing a preventive immunization approach against insect bite hypersensitivity using recombinant allergens: A pilot study.* Vet Immunol Immunop 2015, 166:8-21.

**Jonsdottira S, Svanssona V, Stefansdottira SB, Schüpbachb G, Rhynerc C, Marti E, Torsteinsdottira S.** *A preventive immunization approach against insect bite hypersensitivity: Intralymphatic injection with recombinant allergens in Alum or Alum and monophosphoryl lipid A.* Vet Immunol Immunop 2016a, 172:14-20.

**Klukowska-Rötzler J, Chervet L, M€uller EJ ym.** *Expression of thymic stromal lymphopoietin in canine atopic dermatitis.* Vet Dermatol 2013, 24:54–59.

**Langner KF, Jarvis DL., Nimtz M, Heselhaus JE, McHolland LE, Leibold W, Drolet BS.** *Identification, expression and characterization of a major salivary allergen (Cul s 1) of the biting midge Culicoides sonorensis relevant for summer eczema in horses.* Int J Parasitol 2009, 39:243–250.

**Lee CH, Hong CH, Yu WT, Chuang HY, Huang SK, Chen GS, Yoshioka T, Sakata M, Liao WT, Ko YC, Yu HS.** *Mechanistic correlations between two itch biomarkers, cytokine interleukin-31 and neuropeptide  $\beta$ -endorphin, via STAT3/calcium axis in atopic dermatitis.* Br J Dermatol 2012, 167(4):794-803.

**Leung AKC, Hon KLE (toim.)** *Atopic Dermatitis: A Review for the Primary Care Physician*. Nova Science Publishers Inc. 2011.

**Marti E.** *Equine insect bite hypersensitivity: are molecular diagnostic tests the future?* Vet J 2014, 200(2):212-3.



- Marttinen S.** *Hevosen kesäihottuma ja sen eri hoitomuodot.* Ammattikorkeakoulun opinnäytetyö, Maaseutuelinkeinojen koulutusohjelma, Mustiala, syksy 2013.  
<https://www.theseus.fi/handle/10024/66176>, haettu 23.8.2017.
- Meulenbroeks C, van der Meide NMA, Zaiss DMW, Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM, van der Lugt JJ, Smak J, Rutten VPMG, Willemse T.** *Seasonal differences in cytokine expression in the skin of Shetland ponies suffering from insect bite hypersensitivity.* Vet Immunol Immunopathol 2013, 151:147-156.
- Moingeon P.** *Adjuvants for allergy vaccines.* Hum Vaccin Immunother 2012, 8(10):1492–1498.  
[katsausartikkeli]
- Navarro P, Barbis DP, Antczak D, Butler JE.** *The complete cDNA and deduced amino acid sequence of equine IgE.* Mol Immunol 1995, 32:1–8.
- Nilius B, Owsianik G, Voets T, Peters JA.** *Transient Receptor Potential Cation Channels in Disease.* Physiol Rev 2007, 87:165–217.
- Olivry T.** *New diagnostic criteria for canine atopic dermatitis.* Vet Dermatol 2010, 21(1):123-126.
- Olsen L, Bondesson U, Brostrom H, Olsson U, Mazogi B, Sundqvist M, Tjalve H, Ingvast-Larsson C.** *Pharmacokinetics and effects of cetirizine in horses with insect bite hypersensitivity.* Vet J 2010, 187:347–351.
- Pirie RS, Dixon PM, McGorum BC.** *Endotoxin contamination contributes to the pulmonary inflammatory and functional response to Aspergillus fumigatus extract inhalation in heaves horses.* Clin Exp Allergy 2003, 33:1289–1296.
- Potenzieri C, Undem B.** *Basic Mechanisms of Itch.* Clin Exp Allergy 2012, 42(1):8-19.  
[katsausartikkeli]
- Puggioni F, Durham SR, Francis JN.** *Monophosphoryl lipid A (MPL) promotes allergen-induced immune deviation in favour of Th1 responses.* Allergy 2005, 60(5):678–684.
- Qureshi N, Takayama K, Ribi E.** *Purification and structural determination of nontoxic lipid A obtained from the lipopolysaccharide of Salmonella typhimurium.* J Biol Chem 1982, 257(19):11808–11815.
- Raap U, Wichmann K, Bruder M, Ständer S, Wedi B, Kapp A, Werfel T.** *Correlation of IL-31 serum levels with severity of atopic dermatitis.* J Allergy Clin Immunol 2008, 122(2):421-423.  
[katsausartikkeli]
- Ravetch JV, Kinet JP.** *Fc receptors.* Annu Rev Immunol 1991, 9:457–492.
- Riek RF.** *Studies in allergic dermatitis (Queensland itch) of the horse I Description, distribution, symptoms and pathology.* Aust Vet J 1953, 29:177-184.
- Sayers I, Cain SA, Swan JRM, Pickett MA, Watt PJ, Holgate ST, Padlan EA, Schuck P, Helm BA.** *Amino acid residues that influence FcεRI-mediated effector functions of human immunoglobulin E.* Biochemistry 1998, 37:16152–16164.
- Schaffartzik A, Marti E, Crameri R, Rhyner C.** *Cloning, production and characterization of antigen 5 like proteins from Simulium vittatum and Culicoides nubeculosus, the first cross-reactive allergen associated with equine insect bite hypersensitivity.* Vet Immunol and Immunopathol 2010, 137:76-83.

**Schaffartzik A, Marti E, Torteinsdottir S, Mellor PS, Crameri R, Rhyner C.** *Selective cloning, characterization, and production of the Culicoides nubeculosus salivary gland allergen repertoire associated with equine insect bite hypersensitivity.* Vet Immunol Immunopathol 2011, 139:200-209.

**Schaffartzik A, Weichel M, Crameri R, Bjornsdottir TS, Prosi C, Rhyner C, Torsteinsdottir S, Marti E.** *Cloning of IgE-binding proteins from Simulium vittatum and their potential significance as allergens for equine insect bite hypersensitivity.* Vet Immunol 2009, 115:1068-1075.

**Schaffartzika A, Hamzab E, Jandab J, Crameria R, Marti E, Rhynera C.** *Equine insect bite hypersensitivity: What do we know?* Vet Immunol Immunop 2012, 147(3-4):113-126.  
[katsausartikkeli]

**Schellack C, Prinz K, Egyed A, Fritz JH, Wittmann B, Ginzler M, Swatosch G, Zauner W, Kast C, Akira S, von Gabain A, Buschle M, Lingnau K.** *IC31, a novel adjuvant signaling via TLR9, induces potent cellular and humoral immune responses.* Vaccine 2006, 24(26):5461-5472.

**Schmallenbach KH, Rahman I, Sasse HH, Dixon PM, Halliwell RE, McGorum BC, Crameri R, Miller HR.** *Studies on pulmonary and systemic Aspergillus fumigatus-specific IgE and IgG antibodies in horses affected with chronic obstructive pulmonary disease (COPD).* Vet Immunol Immunopathol 1998, 66:245-256.

**Schurink A, Podesta SC, Ducro BJ, van Arendonk, Frankena K.** *Risk factors for insect bite hypersensitivity in Friesian horses and Shetland ponies in The Netherlands.* Vet J 2013, 195:382-384.

**SEP.** *Suomen eläinlääkäripraktikkojen suositukset hevosten sisäloiskontrolliin.* SEP 2016.  
<http://www.sep.fi/assets/files/pdf/sep2016-loissuositus.pdf>, haettu 23.8.2017.

**Shaw RJ, McNeill MM, Gatehouse TK, Douch PG.** *Quantification of total sheep IgE concentrations using anti-ovine IgE monoclonal antibodies in an enzyme immunoassay.* Vet Immunol Immunopatho 1997, 57:253-265.

**Sonkoly E, Muller A, Lauerma AI, Pivarcsi A, Soto H, Kemeny L, Alenius H, Dieu-Nosjean MC.** *IL-31: A new link between T cells and pruritus in atopic skin inflammation.* J Allergy Clin Immunol 2006, 117:411-417.

**Steinman A, Peer G, Klement E.** *Epidemiological study of Culicoides hypersensitivity in horses in Israel.* Vet Rec 2003, 152:748-751.

**Storan ER, O'Gorman SM, McDonald ID, Steinhoff M.** *Role of cytokines and chemokines in itch.* Teoksessa: Barrett JE (toim.) Handbook of experimental pharmacology. 226. p. Springer, 2015:163-176.

**Suomen Hippos.** *Hevostalous lukuina 2015.*  
[http://www.hippos.fi/files/14454/Hevostalous\\_lukuina\\_2015.pdf](http://www.hippos.fi/files/14454/Hevostalous_lukuina_2015.pdf), haettu 23.8.2017.

**Tarikci N, Kocatürk E, Güngör S, Topaö IO, Ülkümen C, Singer R.** *Pruritus in Systemic Diseases: A Review of Etiological Factors and New Treatment Modalities.* Sci World J 2015, 2015: artikkeli-ID 803752. [katsausartikkeli]

**Tizard IR (toim.)** *Veterinary Immunology.* 9. p. Elsevier, St. Lois 2013.

**Tong L, Ru-Rong J.** (2013) *New insights into the mechanisms of itch: are pain and itch controlled by distinct mechanisms?* Pflugers Arch Eur J Phy 2013, 465(12):1671-1685. [katsausartikkeli]

**Uunila O.** *Hevosien kesäihottuma.* Oulun biokemian laitoksen kandidaatin tutkielma, syksy 2013. [kandidaatin tutkielma]

**van der Meide NMA, Rodersa N, van Oldruitenborgh-Oosterbaanb MMS, Schaapc PJ, van Oersd MM, Leibold W, Savelkoul HFJ, Tijhaar E.** *Cloning and expression of candidate allergens from Culicoides obsoletus for diagnosis of insect bite hypersensitivity in horses.* Vet Immunol Immunopathol 2013, 153:227–239.

**van der Meide NMA, Savelkoul HFJ, Meulenbroeks C, Ducro BJ, Tijhaar E.** *Evaluation of a diagnostic ELISA for insect bite hypersensitivity in horses using recombinant Obsoletus complex allergens.* Vet J 2014, 200(1):31-37.

**Wagner B, Flaminio JBF, Hillegas J, Leibold W, Erb HN, Antczak DF.** *Occurrence of IgE in foals: evidence for transfer of maternal IgE by the colostrum and late onset of endogenous IgE production in the horse.* Vet Immunol Immunopathol 2006a, 110:269–278.

**Wagner B, Miller DC, Lear TL, Antczak DF.** *The complete map of the immunoglobulin heavy chain constant gene region reveals evidence for seven IgG isotypes and for IgD in the horse.* J Immunol 2004, 173:3230–3242.

**Wagner B, Miller Jr. WH, Erb HN, Lunn DP, Antczak DF.** *Sensitization of skin mast cells with IgE antibodies to Culicoides allergens occurs frequently in clinically healthy horses.* Vet Immunol Immunopathol 2009, 132:53–56.

**Wagner B, Miller WH, Morgan EE, Hillegas JM, Erb HN, Leibold W, Antczak DF.** *IgE and IgG antibodies in skin allergy of the horse.* Vet Res 2006b, 37:813–825.

**Wagner B, Radbruch A, Rohwer J, Leibold W.** *Monoclonal antiequine IgE antibodies with specificity for different epitopes on the immunoglobulin heavy chain of native IgE.* Vet Immunol Immunopathol 2003, 92:45–60.

**Wagner B, Siebenkotten G, Leibold W, Radbruch A.** *Organization of the equine immunoglobulin constant heavy chain genes. I. Ce and Ca genes.* Vet Immunol Immunopathol 1997, 60:1–13.

**Wagner B, Siebenkotten G, Radbruch A, Leibold W.** *Nucleotide sequence and restriction fragment length polymorphisms of the equine Ce gene.* Vet Immunol Immunopathol 2001, 82: 193–202.

**Wagner B.** *IgE in horses: occurrence in health and disease.* Vet Immunol Immunopathol 2009, 132, 21–30. [katsausartikkeli]

**Wagner B.** *Immunoglobulins and immunoglobulin genes of the horse.* Dev Comp Immunology 2006, 30:155–164. [katsausartikkeli]

**Watson JL, Pettigrew HD, Wilson LK, Gershwin LJ.** *Isolation and partial expression of a cDNA clone encoding equine IgE heavy chain and production of polyclonal antibodies to the recombinant protein.* J Vet Allergy Clin Immunol 1997, 5:135–142.

**White SD, Yu AA.** *I. Diagnosis and Treatment of the Pruritic Horse.* Teoksessa: Scott W, Miller WH (toim.) Equine Dermatology. 1. p. 2006:457-500.

**Wilson AD, Harwood L, Marti E, Torsteinsdottir S.** *Production of monoclonal antibodies specific for native equine IgE and their application to monitor total serum IgE responses in Icelandic and non-Icelandic horses with insect bite dermal hypersensitivity.* Vet Immunol Immunopathol 2006, 112:156-170.

**Yoo J, Omori M, Gyarmati D, Zhou B, Aye T, Brewer A, Comeau MR, Campbell DJ, Ziegler SF.** *Spontaneous atopic dermatitis in mice expressing an inducible thymic stromal lymphopoietin transgene specifically in the skin.* J Exp Med 2005, 202:541–549.

**Yu A.** (2015) *Treatment of Equine Allergies.* Aaep Resort Symposium 2015.  
<http://files.eventsential.org/b6a3b65a-f39c-4146-ae3a-c5737f59fefb/event-338/64072344-Yu%20-%20Treatment%20of%20Equine%20Allergies.pdf>, haettu 23.8.2017.

#### **Kuvat:**

Kuva 2: mukauteltu **Pedrosa M ym.** *Management of angioedema without urticaria in the emergency department.* Ann Med 2014, 46(8):607-618.  
[https://www.researchgate.net/figure/273408802\\_fig1\\_Figure-1-Schematic-diagram-showing-type-I-hypersensitivity-reactions](https://www.researchgate.net/figure/273408802_fig1_Figure-1-Schematic-diagram-showing-type-I-hypersensitivity-reactions) [haettu 14.9.2017]

Kuva 3: mukautettu **Sabban S.** *Development of an in vitro model system for studying the interaction of Equus caballus IgE with its high-affinity FcεRI receptor.* Doctorate thesis of Philosophy 2011, Department of Molecular Biology and Biotechnology, The University of Sheffield.

Kuva 5: mukautettu **Tarikci N ym.** *Pruritus in Systemic Diseases: A Review of Etiological Factors and New Treatment Modalities.* Sci World J 2015, 2015: artikkeli-ID 803752. [katsausartikkeli]